

THÈSE

pour obtenir le grade de

Docteur

de

**l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement
(Agro Paris Tech)-ENGREF**

Spécialité : Sciences Forestières et du Bois

présentée et soutenue publiquement par

Alejandro Martinez-Meier

le 13 janvier 2009

à l'Ecole Nationale du Génie Rural des Eaux et Forêts, centre de Paris

REPONSE DU DOUGLAS A DES EVENEMENTS CLIMATIQUES EXTREMES

CAPACITE D'ADAPTATION AU CHANGEMENT CLIMATIQUE

*Directeur de thèse : **Philippe Rozenberg***

*Codirecteur(s) de thèse : **Mario Pastorino***

*Travail réalisé : INRA, UR588 Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, 2163 Av. Pomme de Pin, CS 40001
ARDON, 45075 ORLEANS, Cedex 2, France*

Devant le jury :

Mme Claire DAMESIN, Professeur, **UNIVERSITE PARIS SUD-XI**
M. François LEFEVRE, DR2, **INRA**
M. Hervé COCHARD, DR2, **INRA**
Mme Nathalie FRASCARIA-LACOSTE, MCF, **UNIVERSITE PARIS SUD-XI**
M. Philippe ROZENBERG, CR1, **INRA**
M. Mario PASTORINO, Chercheur, **CONICET-INTA**

Présidente
Rapporteur
Rapporteur
Examinatrice
Examineur
Examineur

À ceux qui m'ont fait confiance, parce que cela m'a motivé, porté à l'enthousiasme et au travail.

À tous, un très grand merci. À ceux que je trouverai à notre retour en Argentine. À ceux qui ne sont plus là, parce qu'ils n'ont pas pu attendre notre retour. À mon peuple Argentin, et aussi à cet autre peuple Français, parce que nous avons trouvé en lui toute la cordialité et l'amour qui nous a fait sentir comme si nous étions chez nous.

Merci à tous. Spécialement à Leonardo Gallo, parce qu'il a eu le courage de nous faire confiance ; à Philippe Rozenberg, pour me montrer le chemin le plus convaincant ; à Leopoldo Sanchez, pour cette inimaginable aventure des moulins à vent et à Mario Pastorino, parce que malgré la distance et l'anonymat il a contribué énormément à cette thèse. Merci aussi, à Nathalie Frascaria-Lacoste pour son accompagnement au sein de l'école doctorale ; à Luc Pâques, pour ses interminables et encourageantes conversations ; à Catherine Bastien, qui a été toujours disponible aux moments les plus appropriés ; à Jean-Paul Charpentier pour son encouragement de tous les jours ; à Philippe Label, pour ses idées sur comment doit être la science ; à Jean-Charles Bastien, par son accueil dans l'unité de travail de l'INRA d'Orléans et à Frédéric Millier, parce que sans lui, cette thèse n'aurait pas été possible!

Merci aussi à Franck Rogeon, pour la biblio ; à Colette Defer, pour les conversations de français tous les jeudis ; à Guy Chanteloup, pour ses configurations ; à Maria Elena Gauchat, pour ses discussions ; à Dominique Veisse, pour son aide dans la récolte des

premières carottes de l'autre côté de la mer, ici en France ; à Céline de Vial, pour ses premiers profils de microdensité et à Jean-Yves Gautry, pour ses douglas !

A tous ceux qui m'ont aidé depuis l'Argentine : les membres du Groupe de Génétique Forestière à l'INTA Bariloche en Argentine : Paula, María Marta, Fernanda, Alejandro, Abel, Carolina (Mario et Leo que j'ai remercié déjà plus haut), parce que votre soutien a été très motivant. à Tomás Schlichter qui a aidé à la prolongation du séjour en permettant la soutenance de thèse en France, aussi merci.

A tous ceux qui ont souffert lors des blancs de la semaine précédent la soutenance et qui ont énormément collaboré à la présentation orale : Gilles Pilate, Alan Valadon, Marc Villar, Véronique Jorge, Isabelle Bourgait. A tous !!

Chacun d'entre vous a apporté un grain de sable fondamental à cette réussite. En plus, je peux dire que certains d'entre vous sont venus un jour avec une grosse pierre ! J'ai essayé mille fois d'écrire pourquoi je vous remercie tous. Je trouve finalement une excuse pour chaque une, mais je me suis rendu compte que, j'ai irrémédiablement établi avec quelques d'entre vous, une relation qui va au-delà du travail de cette thèse et donc, merci aussi pour votre microenvironnement ! À toi Guillermina, pour ta plasticité !

J'espère n'avoir oublié personne. S'il était ainsi, pardon. J'espère que vous saurez m'excuser. Je profite donc de ce moment, où vous lisez la thèse, pour vous remercier votre intérêt.

Cette thèse est dédiée à Guillermina pour tout ce qu'elle représente : le courage, la fermeté, la persévérance, la ténacité et par dessus tout, l'amour ! Au sourire d'Emilio et à la joie de Hilario !

Sommaire

Présentation de la thèse.....	8
Introduction.....	12
1 Réchauffement et changement climatique global.....	12
1.1 Les perspectives en France : vers un nouveau climat.....	14
1.2 La canicule de l'année 2003 dans le contexte du changement climatique global : un témoin des événements climatiques extrêmes plus intenses et plus fréquents....	14
1.3 Conséquences sur les forêts.....	16
2 L'adaptation des arbres dans le contexte de changement climatique : quels sont les mécanismes dont disposent les arbres pour faire face à un changement environnemental ?	18
2.1 Processus évolutifs d'adaptation possibles.....	18
2.2 Rôle du bois dans les études d'adaptation. Le bois, intégrateur de plusieurs fonctions : depuis une plasticité physiologique vers une plasticité morphologique en passant par les propriétés hydrauliques du xylème.....	21
3 Comment obtenir les variables de microdensité du bois ? Profils de microdensité à partir de la technique aux rayons-X	25
3.1. Synchronisation des variations de la densité du bois et du climat : construction des normes de réactions.	28
3.1.1 Synchronisation en utilisant les points de rupture à l'intérieur du cerne.	29

4 Propriétés hydrauliques du xylème : conductivité hydraulique spécifique et vulnérabilité à la cavitation.	36
4.1 Conductivité hydraulique spécifique.....	37
4.2 Courbes de vulnérabilité à la cavitation.....	38
5 Variables climatiques.....	40
6 Le douglas : un résineux exotique en France	41
6.1 La France est un gros producteur de douglas en devenir	44
6.2 Le douglas dans le contexte du climat à venir	45
6.3 Variabilité génétique : programme d'amélioration génétique du douglas de l'INRA.	47
7 Etude de la relation entre les variables qui décrivent les propriétés hydrauliques du xylème et les variables de microdensité.	52
8 Qu'attendons-nous de ces recherches ?	53
Chapitre 1	55
La densité du bois a-t-elle eu un effet sur la survie du douglas à la canicule 2003 ?	56
Chapitre 2	65
La réponse microdensitométrique du douglas à la canicule 2003 est-elle héritable ?....	66
Chapitre 3	77
L'enregistrement bois comme réponse des arbres à des contraintes hydriques ; variation génétique de la dendroplasticité.	78
Discussion	118

1 Réponses fonctionnelles et physiologiques observées chez les arbres après la canicule de 2003.....	118
2 Le bois comme marqueur du potentiel d'adaptation des arbres au climat.....	120
3 Variation génétique de la réponse à la canicule 2003 et de la dendroplasticité.	124
4 Validation des profils de microdensité pour la sélection des géotypes mieux adaptés aux contraintes hydriques du milieu.	140
Conclusions.....	144
Perspectives.....	147
Extrapolation de l'étude. D'autres environnements et d'autres espèces.	147
Incorporation des profils de microdensité dans la stratégie de sélection d'arbres <i>plus</i> en Argentine.	149
Références bibliographiques	152
Annexe	180
Relation entre les variables qui décrivent les propriétés hydrauliques du xylème et la microdensité.....	181
Résumé	191
Résumé en anglais	192

Présentation de la thèse

La température de la terre a augmenté de 0,7 °C au cours du siècle dernier, ce qui correspond à une vitesse de réchauffement jamais observée auparavant. Les prévisions et la particularité du changement climatique global, ses événements extrêmes plus intenses et fréquents, posent beaucoup de questions pour l'avenir des écosystèmes forestiers et leur capacité d'adaptation. Ce seront principalement les contraintes hydriques, comme celles qui ont accompagné la canicule qui s'est produite en Europe pendant l'été 2003, qui limiteront la croissance et la survie des arbres dans le futur. On a observé des symptômes qui allaient du rougissement des feuilles jusqu'à la mort totale des individus en passant par la mort de la pousse apicale et de parties de houppiers. On s'attend à ce que des événements climatiques de cette ampleur se produisent plus fréquemment dans les années à venir.

Le bois est un tissu intégrateur de multiples processus dans l'arbre. Certaines propriétés de base comme la densité sont en rapport avec des fonctions importantes pour la survie de l'arbre. La densité intervient dans la fonction de support de l'arbre en relation avec les propriétés mécaniques du bois. Elle joue un rôle dans le stockage du carbone, dans le processus nutritif et le transport d'éléments minéraux, la photosynthèse et dans le transport et le stockage de l'eau. La densité est la conséquence de l'activité cambiale qui elle-même répond aux variations de l'environnement. La variation de la densité du bois entre les cernes et à l'intérieur des cernes peut être interprétée comme un enregistrement de la réponse de l'arbre à des variations environnementales.

La densité du bois a-t-elle été impliquée dans la capacité des arbres à survivre à la canicule de 2003 ? Nous avons utilisé des profils de microdensité pour comparer la densité du bois de douglas qui ont survécu et qui ont succombé suite à la vague de chaleur et de sécheresse de 2003. Nous avons étudié de quelle manière la canicule 2003 a affecté le processus de formation du bois en décrivant les caractéristiques du cerne 2003. L'objectif était de comprendre quels changements structurels ont été provoqués par l'événement climatique extrême de 2003 dans les cernes de douglas. En particulier, nous avons cherché à comprendre quelle pourrait avoir été la relation avec des processus fonctionnels adaptatifs de l'arbre, liés à la structure du xylème.

Au travers d'une approche innovante, il a été possible de mettre en relation les variations de la densité du bois à l'intérieur du cerne avec les variations du climat pendant la saison de végétation. Ces variations de la densité du bois ont été interprétées comme des réponses de l'arbre aux variations de contraintes climatiques, associées aux limitations en eau. Autrement dit, comme une mesure de sa plasticité phénotypique (appelée dendroplasticité dans la suite de la thèse).

Des dispositifs clonaux nous ont permis d'étudier la variation génétique de la dendroplasticité et de la comparer avec celle des variables de microdensité. L'outil principal utilisé était la microdensité indirecte aux rayons X. Les profils de microdensité ont été largement utilisés dans des programmes d'amélioration génétique pour la sélection d'arbres avec des caractéristiques de densité désirables, selon des objectifs de production déterminés. Ils permettent un échantillonnage non destructif d'un grand

nombre d'individus, nécessaire pour la détermination de paramètres génétiques dans le cadre d'un programme d'amélioration. Les profils microdensitométriques n'ont à notre connaissance encore jamais été utilisés pour la sélection de génotypes résistants à la sécheresse, moins encore pour identifier des génotypes avec une plasticité désirable face aux contraintes du milieu.

Le douglas vert (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Mirb.) Franco) (appelé douglas dans la suite de la thèse) est une des espèces forestières de grande importance économique et écologique. Il a été fortement introduit en Europe, particulièrement en France. La surface actuelle de plantation en France est estimée à 400 000 hectares, ce qui en fait la plus grande surface d'implantation du douglas hors de son aire naturelle, l'Amérique du nord. Cette surface représente 50 % de la ressource en douglas en Europe. Le douglas est une espèce hautement productive. Il exige une bonne qualité de site forestier : des sols profonds bien drainés, avec une bonne disponibilité en eau et des précipitations d'environ 1000 mm annuels. Ses exigences écologiques et les symptômes postérieurs à la canicule 2003, observés chez les arbres et, parmi les résineux, particulièrement chez le douglas, font de cette espèce un modèle bien adapté à l'étude de la densité du bois comme marqueur du potentiel d'adaptation des arbres au changement climatique.

Cette thèse est une thèse sur articles. Elle contient trois articles :

- 1) Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Pastorino, M., Gallo, L., Rozenberg, P., 2008. What is hot in tree rings? The wood density of surviving Douglas-firs to the 2003 drought and heat wave. *Forest Ecology and Management* 256: 837–843.
- 2) Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Dalla-Salda, G., Pastorino, M., Gautry, J-Y., Gallo, L., Rozenberg, P., 2008. Genetic control of the tree-ring response of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) to the 2003 drought and heat-wave in France. *Annals of Forest Science* 65:102. Available online at: www.afs-journal.org.
- 3) Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Dalla-Salda, G., Gallo, L., Pastorino, M., Rozenberg, P. Ring density record of phenotypic plasticity and adaptation to drought in Douglas-fir, manuscrit soumis à : *Forest Ecology and Management*.

Ces articles sont précédés d'une introduction générale et suivis d'une discussion et d'une conclusion. L'introduction présente également certains éléments méthodologiques permettant de comprendre quelques résultats supplémentaires, non contenus dans les articles, présentés et utilisés dans la discussion. Chaque article en anglais est précédé d'un résumé en français.

Introduction

1 Réchauffement et changement climatique global.

Durant ces dernières décades, peu d'évènements ont autant réclamé l'attention de politiques, planificateurs, scientifiques et de la société en général comme le changement climatique global. La modification par l'homme de l'équilibre énergétique de la planète a un fort impact sur les écosystèmes naturels et sur la société humaine (IPCC 2001, COPA-COGECA 2003, UNEP 2004, IPCC 2007).

Divers scénarios futurs ont été proposés en relation avec les nouvelles conditions climatiques. Les modèles de prédiction climatique les plus optimistes, impliquant une stabilisation des émissions de dioxyde de carbone au niveau de l'année 2000, pronostiquent une augmentation de 0,1 °C par décennie de la température globale de la planète (IPCC 2007). Néanmoins, les modèles les plus pessimistes, s'appuyant sur une augmentation des émissions de dioxyde de carbone, par effet de la combinaison de différents facteurs comme l'augmentation de l'activité industrielle, l'augmentation de la population mondiale et l'augmentation de l'utilisation des technologies produisant des gaz à effet de serre et des aérosols dans l'atmosphère, pronostiquent une augmentation de la température globale comprise entre 2,4 °C et 6,4 °C dans le siècle à venir (IPCC 2007).

Des modifications du régime de distribution des précipitations sont prévues ainsi que des événements extrêmes de sécheresses et de chaleur. Ces derniers sont prédits plus

fréquents et plus intenses dans la plupart des régions de la planète (Meehl et Tebaldi 2004, Stott et al. 2004). Bien que l'incertitude sur l'avenir du climat reste encore importante, le réchauffement global de la planète est indubitable, démontré par les observations d'augmentations des températures globales de l'air et des océans, de la fonte de neige et de glace et de l'élévation du niveau de la mer (IPCC 2007).

Non seulement les changements directionnels des conditions de l'environnement sont inquiétants, mais aussi la rapidité avec laquelle ces changements climatiques se produisent. Dans ce contexte, le changement climatique global se présente aujourd'hui comme une problématique prioritaire dans le domaine de la conservation des ressources naturelles, particulièrement en ce qui concerne la préservation des ressources génétiques. Différents groupes scientifiques du monde spéculent avec des scénarios de dévastation de communautés naturelles, au moins telles qu'elles existent actuellement (Rehfeldt et al. 2001 et 2002, Walther et al. 2002, Beniston 2003, Fuhrer et al. 2006, Parmesan 2006). Une préoccupation particulière existe pour les écosystèmes forestiers, où les arbres jouent un rôle capital (Hamrick 2004, Savolainen et al. 2004, St. Clair et Howe 2007, Kramer et al. 2008). Leur longévité est opposée à la rapidité avec laquelle le changement climatique global est prévu. L'augmentation de la température et la récurrence d'événements climatiques extrêmes plus intenses et fréquents pousseraient les écosystèmes terrestres vers leurs limites de capacité d'adaptation dans le futur, en augmentant leur vulnérabilité (Bréda et al. 2006, Granier et al. 2007, Bower et Aitken 2008).

1.1 Les perspectives en France : vers un nouveau climat.

Dans le contexte de changement climatique, la France a connu une tendance à l'augmentation des températures moyennes de l'ordre de 1°C pendant le XXème siècle (Moisselin et al. 2002), surpassant la moyenne mondiale qui est de 0,7°C. La variation des températures et précipitations pendant ce siècle montre des augmentations des contrastes saisonniers avec une tendance vers plus de précipitations intenses en hiver et des étés plus chauds et plus secs, principalement dans le sud du pays (Moisselin et al. 2002, Bessemoulin et al. 2004, Planton 2004). Les modèles de changement climatique global pour la France donnent des tendances vers un climat qui n'échappe pas aux prévisions à niveau mondial, avec des vagues de chaleur estivales plus fréquentes, plus longues et plus intenses.

1.2 La canicule de l'année 2003 dans le contexte du changement climatique global : un témoin des événements climatiques extrêmes plus intenses et plus fréquents.

De multiples preuves soutiennent cette préoccupation de l'impact du changement climatique sur les écosystèmes forestiers. Durant les dernières années on a enregistré des événements extrêmes de sécheresse estivale avec des températures d'été inhabituellement hautes. Onze des douze années les plus chaudes depuis 1850 sont comprises entre 1995 et 2006 (IPCC 2007), en comprenant la décennie des années 90 comme la décennie la plus chaude des 100 dernières années (Rebetez et al. 2006). On souligne la vague de sécheresse et chaleur qui s'est produite en Europe, principalement en

France, pendant l'été 2003 (Meehl et Tebaldi 2004, Levinson et Waple 2004, Rebetez et al. 2006). Elle a eu un fort impact sur les ressources naturelles. On estime à 13 billions d'euros les pertes économiques et à 14000 le nombre de morts suite à ce processus seulement en France (COPA-COCEGA 2003). Selon le Service Météorologique français, cette vague de chaleur est marquée comme extraordinaire non seulement pour son intensité, mais aussi pour son étendue et sa durée (Météo France 2003). Selon Chuine et al. (2004) elle a été l'événement le plus chaud depuis au moins l'année 1370. Rebetez et al. (2006) décrivent l'année 2003 comme extrêmement ensoleillée, sèche et chaude. Les températures minimales et maximales ont été très nettement supérieures aux températures minimales et maximales moyennes des mois de juin et août, en arrivant dans quelques cas jusqu'à 6 °C de plus. Jamais la France n'avait connu une vague de chaleur aussi intense : durant les quinze premiers jours du mois d'août 2003, des records absolus de températures ont ainsi été battus un peu partout dans le pays (Météo France 2003). En moyenne, les températures maximales ont dépassé de 2°C celles atteintes lors des trois derniers étés les plus chauds, à savoir ceux de 1976, 1983 et 1994. L'élévation des températures minimales est encore plus marquée : elles étaient en moyenne supérieures de 3,5°C aux normales saisonnières. Autre caractéristique de cet épisode caniculaire : son étendue géographique. Les derniers étés d'intenses chaleurs n'avaient touché que certaines régions. Mais cette année-là, c'est pratiquement l'ensemble de la France qui est concerné. Pourtant, plus que par son intensité ou son étendue, c'est

essentiellement par sa durée que la canicule de cet été s'est singularisée. Jamais les précédents épisodes caniculaires n'avaient été aussi longs (Planton 2004).

Les conditions climatiques produites par la vague de chaleur et de sécheresse ne se sont pas seulement manifestées pendant les trois mois de l'été, mais aussi pendant toute la période comprise entre mai et septembre, c'est-à-dire pendant la saison de végétation des arbres. On s'attend à ce que les conditions climatiques de l'année 2003 deviennent la norme en France durant le XXIème siècle (Rebetez et al. 2006, Roman-Amat 2007) quel que soit le scénario (optimiste – pessimiste). Bien que des événements climatiques comme la canicule de 2003 soient difficiles à prédire, on pourrait donc avoir, vers la fin du XXIème siècle, des étés plus chauds et plus secs encore que celui de 2003 (Dufresne et al. 2006, Rebetez et al. 2006).

1.3 Conséquences sur les forêts

La canicule de l'année 2003 a fortement affecté la santé des forêts. Des dégâts généralisés avec mortalité partielle ou totale des houppiers ont été constatés chez les arbres pendant l'année 2003 et lors de la reprise des saisons de végétation des années suivantes (DSF 2004, Bréda et al 2004, 2006). Ces symptômes ont été marqués principalement dans des peuplements sur sols superficiels où les réserves hydriques sont très faibles et aussi où la pluviométrie est déjà limitée pendant les années normales (DSF 2004, Angelier 2007). Des facteurs comme l'exposition ont aussi renforcé les dégâts sur les arbres. Les expositions sud, sud-ouest et les altitudes comprises entre 250 et 500 m sont

plus affectées (DSF 2004). La canicule a eu des conséquences négatives sur le bilan hydrique en général. D'importantes diminutions de la disponibilité en eau dans les sols ont été constatées pendant l'année 2003 (Bréda et al. 2006, Granier et al. 2007). Les processus éco-physiologiques des arbres ont été modifiés (Bréda et al. 2004, 2006). Des contraintes hydriques fortes se sont mises en place, affectant en premier la transpiration par fermeture stomatique et accompagnées d'une réduction de la croissance. L'assimilation du CO₂ a été fortement réduite affectant fortement la productivité primaire des forêts. Si les conditions de sécheresse et chaleur se prolongent et s'intensifient pendant la station de végétation, comme ça a été le cas lors de la canicule 2003, l'augmentation de la demande atmosphérique provoque des modifications irréversibles dans le processus de conduction de l'eau au travers du xylème (Domec et Gartner 2002, Breda et al. 2006, Taiz et Zeiger 2006) en affectant la survie des arbres. Ces processus d'autorégulation de la croissance chez les arbres forestiers impliquent de forts ajustements, soit structurels (diminution de la surface foliaire, mise en place d'un xylème plus résistant à la cavitation, augmentation de la surface d'exploration des racines), soit physiologiques (fermeture des stomates, diminution de l'activité photosynthétique) et parfois même toutes ces modifications en même temps (Battaglia et al. 1998).

La canicule de l'année de 2003 ne doit pas être considérée comme un fait isolé. On doit la considérer comme un événement climatique extrême destiné à devenir plus fréquent et plus intense dans un futur pas très éloigné. Pour les espèces avec une grande demande en eau pendant la saison de végétation, le processus de changement climatique global

pourrait agir comme une force de sélection majeure. Les arbres pourront-ils s'adapter ? Quels seront les changements soit structuraux, soit fonctionnels que les arbres pourront mettre en œuvre pour préserver leur intégrité en s'adaptant aux nouvelles conditions climatiques?

2 L'adaptation des arbres dans le contexte de changement climatique : quels sont les mécanismes dont disposent les arbres pour faire face à un changement environnemental ?

2.1 Processus évolutifs d'adaptation possibles

Les populations d'arbres pourront s'adapter au changement climatique au travers des processus évolutifs qui impliquent soit la migration, soit l'évolution sur place (Rehfeldt et al. 2001, 2002, St. Clair et Howe 2007). Ces processus auront des conséquences sur la diversité génétique des populations. En général ces réponses adaptatives se produisent à long terme (Futuyma 1997, Davis et Shaw 2001). Deux générations au moins doivent se succéder pour que le changement de structure génétique de la population puisse se mesurer. La migration implique un changement de la position et/ou dispersion géographique des populations. Quand elle correspond à la découverte de conditions environnementales favorables, elle peut entraîner la colonisation de nouveaux territoires. L'effet de la sélection, qui nécessite la présence d'une certaine diversité génétique au sein de la nouvelle population déplacée, pourrait permettre une adaptation rapide aux

conditions locales (Skroppa et Kohmann 1997, Rehfeldt et al. 2001). L'évolution sur place est une variation dans le temps de la structure génétique de populations sous l'effet de contraintes environnementales modérées, tendant à harmoniser la population avec son environnement. Pour qu'il y ait évolution, il faut qu'il y ait des variations phénotypiques entre individus et qu'à ces variations correspondent des avantages sélectifs, et qu'enfin les caractères pour lesquels il existe des phénotypes plus ou moins avantageux soient héréditaires.

Les rôles relatifs de ces processus dans le contexte des particularités prédites du changement climatique dépendront des caractéristiques biologiques de l'organisme et du délai considéré (St. Clair et Howe 2007) ainsi que de l'existence d'une variation génétique suffisante au sein de la population (Hamrick 2004, Kramer et al. 2008). La plupart des prédictions de changement climatique global sont pronostiquées sur un horizon de 100 ans ou moins ce qui fournit peu d'opportunités pour les arbres forestiers de migrer ou d'évoluer sur place. La migration et l'évolution sur place seront des mécanismes d'adaptation pertinents pour les espèces avec des courtes durées de vie, ou en cas d'utilisation du reboisement artificiel dans de nouvelles aires ou avec de nouvelles sources de graines ayant des caractéristiques adaptatives choisies pour s'assortir au climat futur supposé (St. Clair et Howe 2007, Bower et Aitken 2008). Mais cela n'est pas le cas pour les populations naturelles d'arbres forestiers (Rehfeldt et al 2001, 2002, Savolainen et al. 2004). Les forêts du siècle prochain seront constituées en grande partie des arbres qui sont vivants aujourd'hui. La santé de la plupart des forêts d'aujourd'hui dépendra des

capacités des arbres à survivre et à se reproduire sur place. Donc, la plasticité phénotypique, définie comme la façon selon laquelle un caractère donné, soit physiologique, soit morphologique est affecté par les variations de l'environnement pour un génotype donné (Bradshaw 1965), jouera un rôle important dans le processus d'adaptation des arbres au changement climatique (Bradshaw 1965, Davis et Shaw, 2001; Rehfeldt et al. 2001; Sultan 2004, Westfall et Millar, 2004). Si le changement environnemental est quantifié, on peut construire une courbe décrivant les variations du phénotype en fonction de la variable environnementale pertinente : cette courbe, nommée norme de réaction, mesure la plasticité (Sarkar 1999, Gibert et al. 2004).

Autrement dit, dans une population, un changement environnemental peut entraîner chez chaque individu le passage d'un phénotype à un autre selon une trajectoire, la norme de réaction, elle-même variable entre individus. La sélection peut agir sur la forme de la norme de réaction et sur la valeur moyenne des caractères utilisés pour décrire la plasticité, avec mise en jeu de systèmes génétiques indépendants (Pigliucci et Schlichting 1996, Gibert et al. 2004, Pigliucci 2005). La plasticité est parfois considérée comme un caractère (Tucić et al. 1989, Roff et Bradford 2000), mais c'est plutôt un concept commode permettant de manipuler plus facilement la réponse d'un génotype donné aux variations du milieu. Donc, elle doit être nécessairement associée à un caractère, lui-même mis en relation avec un changement environnemental, climatique par exemple, pendant lequel la variation du caractère a été mesurée. La plasticité phénotypique d'un

caractère donné peut avoir une valeur adaptative, si elle entraîne des avantages sélectifs. Elle peut en plus évoluer si elle est héritable (Bradshaw 1965, Doughty et Reznick 2004).

La plasticité est un mécanisme particulièrement important pour les espèces sessiles et longévives comme les arbres forestiers, qui subissent au cours de leur vie de nombreuses et importantes fluctuations environnementales (Bradshaw 1965). Elle fait partie des outils adaptatifs des individus. Des variations de l'environnement dépassant les valeurs de plasticité de certains individus pourront entraîner un changement de la diversité génétique au sein d'une population. L'arbre qui répond le mieux aux variations de l'environnement s'acclimate mieux, peut survivre, mieux se reproduire et par conséquent transmettre ses gènes à ses descendants. On peut considérer que la plasticité phénotypique peut avoir une valeur adaptative si le phénotype alternatif montre un avantage relatif par rapport au phénotype original (Thompson 1991).

2.2 Rôle du bois dans les études d'adaptation. Le bois, intégrateur de plusieurs fonctions : depuis une plasticité physiologique vers une plasticité morphologique en passant par les propriétés hydrauliques du xylème.

Le bois chez les arbres forestiers a un caractère intégrateur (Enquist et al. 1999, Bouriaud et al. 2004, Rosner et al. 2007, 2008). Il participe à plusieurs fonctions différentes. Il joue un rôle mécanique car il forme la structure de l'arbre et supporte sa masse. Le bois est le résultat de processus fonctionnels en relation avec le stockage des minéraux et des produits de la photosynthèse. Il participe aussi au transport et au

stockage de l'eau (Waring et Running 1978, Hacke et al. 2001, Domec et Gartner 2002, Beedlow et al. 2007). Certaines caractéristiques du bois comme la densité affectent les propriétés hydrauliques du xylème (Hacke et Sperry 2001, Sperry et al. 2006, Pittermann et al. 2006b). Ainsi par exemple, Dalla-Salda et al. (2009) ont démontré que, chez le douglas, la densité du bois était impliquée dans la capacité à maintenir une grande partie du xylème fonctionnelle durant la canicule 2003. Chez les arbres, la sève brute circule des racines vers les feuilles au travers du xylème. Le stress provoqué par le manque d'eau et les fortes demandes atmosphériques peut induire le phénomène de cavitation : la colonne d'eau dans le continuum sol-plante-atmosphère s'interrompt quand les pressions internes dans le xylème deviennent excessivement négatives (Cochard 1992, Cruziat et al. 2002, Tyree et Sperry 1989, Taiz et Zeiger 2006).

Le bois des conifères est relativement simple. Il est constitué de trachéides verticales et de cellules radiales horizontales (Zobel et van Buijtenen 1989, Zobel et Sprague 1998). Chaque cerne formé en climat tempéré présente deux régions très différenciées : la première, le bois initial (ou bois de printemps), est caractérisée par des cellules avec des parois fines et des lumens de gros diamètres. Vers la fin de la période de croissance, en été, les conifères forment un autre type de bois, appelé bois final (ou bois d'été) : face au bilan hydrique plus défavorable de l'été les arbres réagissent en produisant des trachéides avec des lumens étroits et des parois plus épaisses (Wilkes 1987, Larson 1994). Le diamètre interne des conduits cellulaires influence le débit de la sève brute (Domec et Gartner 2002). Tandis que la plus grande épaisseur des parois permet de supporter des

pressions négatives plus fortes et de limiter le risque d'implosion (collapse), le plus faible diamètre intérieur des lumens permet de limiter dans une certaine mesure l'apparition et la propagation de la cavitation. Ceci confère à l'arbre des propriétés hydrauliques différentes de celles qu'il aurait s'il continuait à conduire de l'eau au travers de grands lumens dans des cellules à parois fines (Domec et Gartner 2002, Bréda et al. 2006). Ce changement anatomique détermine la production de bois de densité très variable avec un rôle central dans le fonctionnement des arbres forestiers pendant les saisons de végétation. L'environnement affecte la densité du bois à partir de son influence sur les processus éco-physiologiques (Hughes 1980, Vaganov et al. 1999, 2006). C'est pour ça que les caractéristiques du cerne, sa taille et sa structure constituent un enregistrement des conditions durant lesquelles le bois s'est formé (Hughes 1980, Downes et Drew 2007). Il est possible de trouver des bandes de bois de haute densité qui ressemble à du bois final à l'intérieur de la portion de bois initial. Ces changements de densité très marqués dans le cerne sont connus sous le nom de faux cernes. Ces faux cernes constituent une réaction du cambium à un événement particulier de stress hydrique dont la trace reste enregistrée dans le bois (Zahner 1968, Larson 1994, Rozenberg et al. 2002).

La densité du bois est donc en étroite relation avec l'architecture hydraulique du xylème et exprime la réponse de l'arbre face aux contraintes hydriques. La variation de la densité à l'intérieur du cerne constitue la variation phénotypique la plus importante du caractère, plus grande que la variation entre cernes, entre différents niveaux de hauteurs à l'intérieur de l'arbre, entre arbres, entre environnements. C'est une réponse

phénotypique d'un génotype donné à des variations environnementales : c'est donc une expression de la plasticité phénotypique. Cette réponse pourrait être interprétée comme une mesure de l'aptitude à la survie, un marqueur du potentiel d'adaptation des arbres aux variations du climat. De la même façon, les variations de la densité du bois entre saisons de végétation, c'est-à-dire entre cernes, peuvent être étudiées comme la réponse du cambium aux variations interannuelles du climat. En fait, la largeur du cerne et les composantes qui décrivent la densité (densité moyenne du cerne, densité du bois initial et densité du bois final) sont utilisées par les études dendrochronologiques, permettant de reconstruire les climats passés (Douglass 1920, 1933, Fritts 1976). Mais dans ce cas, les variations d'un cerne à l'autre, du cœur de l'arbre vers l'écorce, ne peuvent pas être expliquées uniquement par les variations du climat. D'autres facteurs doivent être soit pris en compte, soit négligés. Par exemple, des facteurs biotiques : compétition entre arbres, attaques d'insectes (Creber 1977, Rolland et Lempérière 2004), mais aussi le fait que les cernes fabriqués près de la moelle de l'arbre sont très différents de ceux fabriqués plus loin, c'est-à-dire plus tard. Cet effet est lié au vieillissement du cambium à un niveau donné dans l'arbre (effet âge cambial, Zobel et Sprague 1998).

Dans ce contexte, la variation à étudier est la variation génétique de la réponse des arbres à l'environnement, en stricte relation avec l'acclimatation et/ou le potentiel d'adaptation des arbres au changement climatique. Sur la base de dispositifs du type agronomique chez les arbres forestiers, il est possible de séparer les effets environnementaux et génétiques de la réponse des arbres au climat. Le fait d'avoir les

mêmes génotypes, des clones dans notre cas, dans différents sites, plus la possibilité d'étudier les variations de la réponse des arbres au climat passé à partir de la lecture de l'enregistrement bois nous permet de décrire deux types différents de plasticité phénotypique chez les arbres. Le même génotype dans différents sites permet de décrire la composante géographique de la plasticité, alors que le même génotype dans un site donné permet de décrire la composante temporelle de la plasticité (chapitre 3). Nous proposons l'acronyme dendroplasticité pour l'étude de la plasticité phénotypique chez les arbres forestiers à l'aide du bois.

3 Comment obtenir les variables de microdensité du bois ? Profils de microdensité à partir de la technique aux rayons-X

Une façon d'analyser les oscillations inter et intra-annuelles des caractéristiques des éléments du bois se base sur l'obtention d'images aux rayons X de sections transversales des troncs. Des échantillons de bois sont prélevés dans chaque arbre à l'aide d'une tarière de Pressler de 5 mm de diamètre. La tarière est enfoncée à la hauteur de la poitrine et perpendiculairement à l'axe du tronc, en passant par la moelle ou le centre des arbres, en traversant donc tous les cernes depuis l'écorce jusqu'à la moelle. La connaissance de l'année de formation du dernier cerne est déterminée par la date de récolte. Le millésime des cernes précédents est déterminé en prenant ce cerne comme référence. Par conséquent, chaque échantillon (carotte) de 5 mm de diamètre a une longueur égale au rayon de l'arbre de manière à comprendre toute la variation de la densité depuis la moelle

jusqu'à l'écorce. La digitalisation d'une image aux rayons X montre différentes intensités de gris qui permettent de construire les profils de densité (Polge 1966) (figure 1a). Une échelle de densité connue analysée avec les échantillons du bois, permet de transformer chaque intensité de gris en une valeur de densité. Le logiciel windDENDRO (Guay et al. 1992) permet d'étalonner la relation niveau de gris – densité, puis d'obtenir le profil de microdensité. Le long de ce profil, les valeurs de densité se succèdent à intervalles réguliers (tous les 25 microns) le long d'un rayon. Les profils de microdensité sont intégrateurs des caractéristiques anatomiques du bois (Decoux et al. 2004). Au moins pour le douglas, il existe une relation étroite entre l'augmentation de la densité à l'intérieur du cerne et l'épaississement des parois cellulaires dans les directions tangentielles et radiales et la diminution du diamètre radial des trachéides (Rathgeber et al. 2006).

Un programme développé avec le logiciel d'analyse de données R (R Core Team Development 2008) permet de condenser toutes les données de façon à ne conserver que quelques variables particulièrement riches en information (Mothe et al. 1998). Dans les trois articles qui composent cette thèse (chapitres 1, 2 et 3) nous utilisons les variables suivantes : la largeur du cerne, la largeur du bois initial et la largeur du bois final, le pourcentage de bois initial et le pourcentage de bois final, la densité moyenne du cerne, la densité minimum et maximum du cerne, la densité moyenne du bois initial et la densité moyenne du bois final, aussi que l'écart-type intra-cerne comme mesure de la variation des valeurs de densité dans chaque cerne (figure 1b).

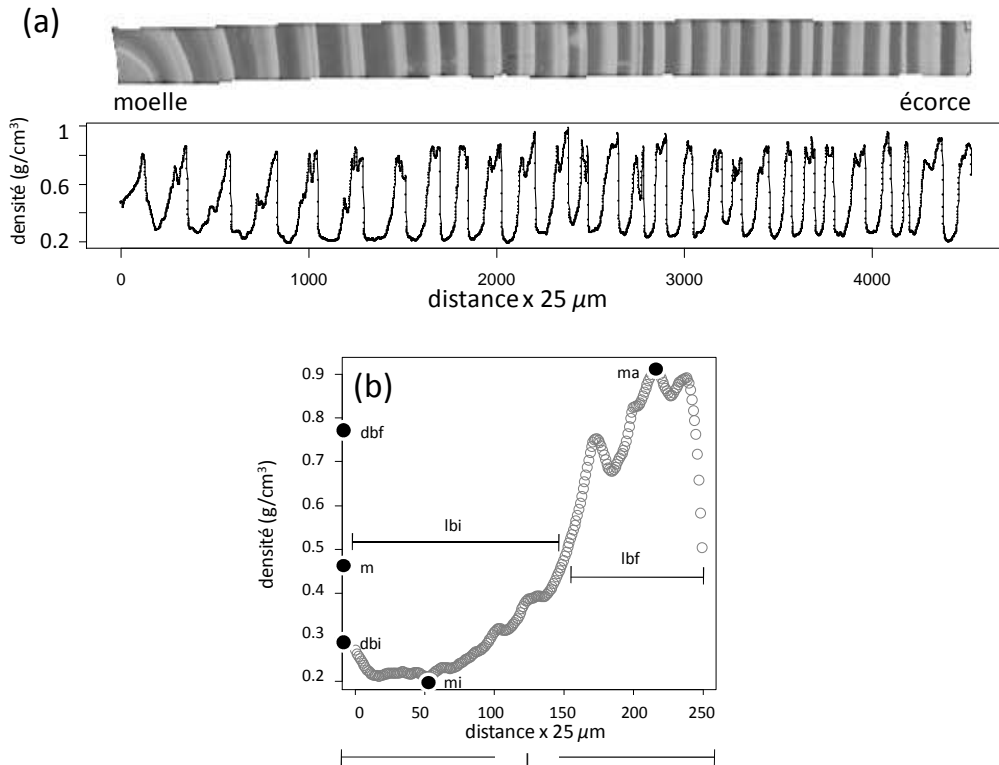


Figure 1 (a) image aux rayons X d'une carotte de bois de douglas. L'image est scannée et analysée par le logiciel windDENDRO, qui permet de transformer à partir d'une échelle de densité connue les différentes tonalités de gris en valeurs de densité du bois. Ainsi nous obtenons le profil de microdensité de bois, lequel est analysé à l'aide d'un programme écrit avec le logiciel R, qui permet d'estimer cerne par cerne les variables suivantes (b) : largeur du cerne (l), densité moyenne du cerne (m), densité minimum du cerne (mi), densité maximum du cerne (ma), densité du bois initial (dbi), densité du bois final (dbf), largeur du bois initial (lbi), largeur du bois final (lbf), le pourcentage de bois

initial et l'écart-type comme mesure de la dispersion des valeurs de microdensité à l'intérieur du cerne.

En tenant compte du fort lien entre les profils de microdensité et l'anatomie du bois, une variable supplémentaire a été définie pour étudier la relation entre densité et propriétés hydrauliques du bois (résultats en cours de publication présentés dans la discussion). Cette variable de microdensité est la moyenne de la séquence des 100 premières valeurs de densité dans chaque cerne. Ces 100 premières valeurs de densité correspondent à une longueur de 2,5 mm, qui est égale au diamètre de l'aiguille utilisée pour la mesure de la conductivité hydraulique spécifique par cerne selon une nouvelle technique décrite par Dalla-Salda et al. (2009). Cette variable est utilisée dans la discussion qui constitue le chapitre final de cette thèse.

3.1. Synchronisation des variations de la densité du bois et du climat : construction des normes de réactions.

Les profils de microdensité sont exprimés en fonction de la distance (Guay et al 1992). Pour étudier la dendroplasticité nous avons besoin de mettre en relation les variations de la densité du bois avec les variations du climat. De cette façon nous pouvons construire des normes de réaction et ainsi mesurer la dendroplasticité (Sanchez-Vargas et al. 2007). C'est une méthode indirecte de synchronisation. Nous interprétons le profil microdensitométrique d'un cerne comme l'enregistrement des variations de l'activité

cambiale en réponse aux contraintes hydriques. Nous avons utilisé les variations de l'indice d'aridité de De Martonne (De Martonne 1926) pour décrire le climat de la saison de végétation. Cet indice utilise des variables simples comme la température et la précipitation qui sont facilement disponibles dans la plupart des stations météorologiques.

3.1.1 Synchronisation en utilisant les points de rupture à l'intérieur du cerne.

Cette méthodologie de synchronisation est expliquée en détail dans le chapitre 3. Elle consiste à identifier et utiliser des cernes avec des faux cernes. Ils sont interprétés comme la réponse de l'arbre aux variations de l'environnement relatives à des contraintes hydriques pendant la saison de végétation. Dans un cerne avec des faux cernes, des points que nous appelons *points de rupture* sont identifiés (figure 2a). Ces points de rupture peuvent se remarquer soit dans le bois initial (et peuvent alors correspondre à des faux cernes), soit dans le bois final. Dans les deux cas, ils correspondent à une augmentation ou une diminution brutale et bien visible de la densité du bois. Le même nombre de points de rupture est identifié dans le profil climatique de la saison de végétation correspondante (figure 2b).

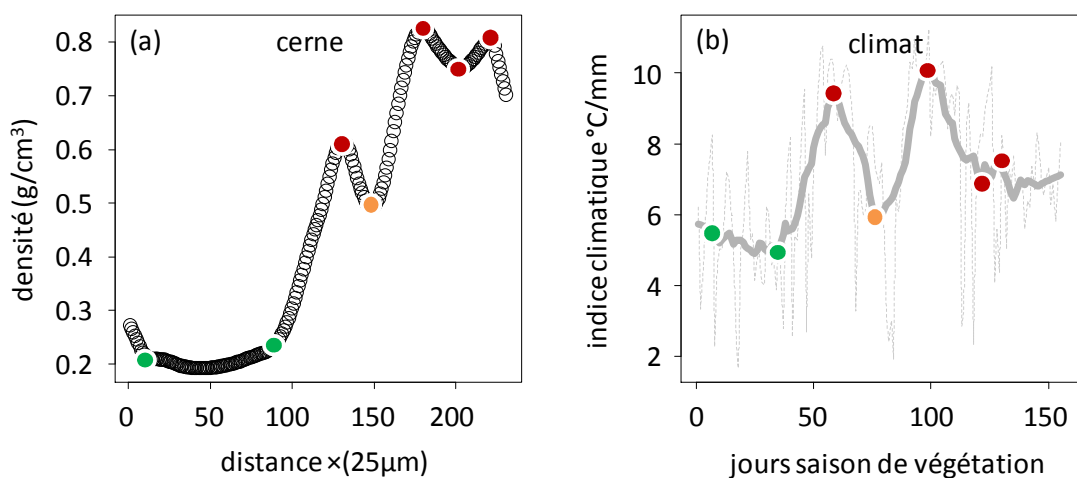


Figure 2 correspondance entre (a) la variation de la densité du bois à l'intérieur du cerne et (b) la variation de l'indice climatique durant une année donnée. Les points marqués sur le profil du cerne et le profil climatique sont ceux identifiés comme les *points de rupture*. Les couleurs indiquent les correspondances précises entre points de rupture des deux types de profils.

La forme qui caractérise le cerne d'une saison de végétation donnée est commune à tous les arbres dans le dispositif. Nous étudions les variations liées aux sites et aux années à l'aide des génotypes communs aux sites et aux années. De la même façon nous étudions la variation génétique de la réponse en utilisant le nombre maximum possible d'entités génétiques disponible dans chaque site (chapitre 3).

Les valeurs de densité du bois des point de ruptures identifiés dans les cernes définissent l'axe y, et sont mis en relation avec les valeurs des points de rupture du profil de l'indice climatique, sur l'axe x, pour construire les normes de réactions individuelles.

3.1.2 Synchronisation en utilisant les ondelettes.

La méthode décrite précédemment peut être utilisée seulement quand nous disposons de cernes avec des faux cernes. C'est pourquoi il n'est pas possible de l'utiliser pour estimer la dendroplasticité dans tous les cernes le long du profil de microdensité, puisque toutes les années ne se caractérisent pas par la présence de faux cernes. Pour étudier la variation de la réponse en utilisant tous les cernes disponibles, nous utilisons une méthode simplifiée de définition de normes de réaction intra-cerne qui emploie la méthodologie de compression de l'information à partir de la méthode dite du *pas*, basée sur les ondelettes (Rozenberg et Cahalan 2000, Rozenberg et al. 2004). Les ondelettes sont un outil mathématique classiquement utilisé pour compresser des signaux numériques, par exemple du son ou des images (Nason et al. 2006, Aldrich 2007, Raimondo et Stewart 2007). Le signal original est décomposé en un nombre fixe de signaux et chaque signal décrit les variations dans une certaine classe de fréquences. Selon le type d'ondelette, différents types de signaux simplifiés peuvent être reconstruits. Le choix des ondelettes de Haar (Daubechies 1992) permet de reconstruire un signal en forme d'escalier expliquant au moins une portion arbitrairement choisie de la variabilité contenue dans le signal original (Rozenberg et al. 1997, Rozenberg et Cahalan 2000). Dans notre cas, nous utilisons les ondelettes pour modéliser deux signaux, la variation de la densité du bois à l'intérieur du cerne (figure 3a), et la variation de l'indice climatique pendant la saison de végétation (figure 3b). Le signal reconstruit est ensuite

décomposable en caractères faciles à interpréter biologiquement : chaque pas du profil du cerne peut être considéré comme décrivant un groupe de trachéides contigües de caractéristiques proches en ce qui concerne les valeurs de microdensité. Notre hypothèse est que toutes les cellules d'un pas se ressemblent plus entre elles qu'elles ne ressemblent aux cellules des pas voisins, et donc qu'elles ont été formées pendant une même période sous des conditions environnementales homogènes.

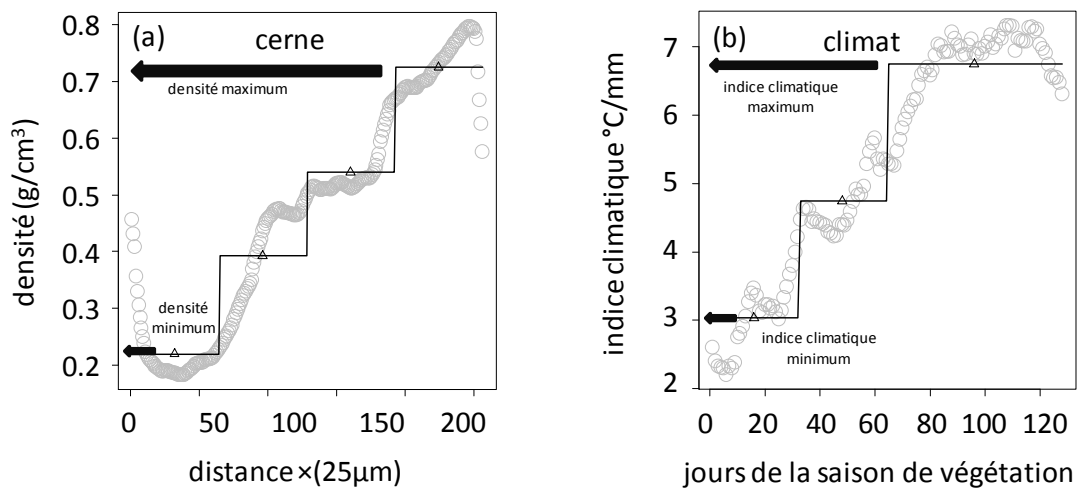


Figure 3 (a) variation de la microdensité du bois et (b) du climat pendant une saison de végétation donnée (cercles gris) et le modèle de description de pas (lignes noires) avec la valeur moyenne de chaque pas (triangles) expliquant au moins 90 % de la variation observée.

Chaque pas est caractérisé par une valeur moyenne de densité du bois et par une position dans le cerne, exprimée en pourcentage de la largeur de cerne. Notre hypothèse est que la valeur de densité du premier pas dans le cerne représente un groupe de

trachéides qui se sont formées au moment où les conditions climatiques correspondaient à celles du premier pas de l'indice climatique. De la même manière, nous admettons que le pas de densité maximale dans le bois final s'est formé au moment où les conditions environnementales étaient celles du pas de valeur maximale de l'indice climatique. Selon cette approche, la norme de réaction qui décrit la dendroplasticité est alors définie par deux points et mesurée par la valeur de la pente entre ces deux points. Cette pente mesure l'augmentation de la densité du bois en fonction de l'augmentation de l'indice climatique, c'est-à-dire de l'augmentation de la sécheresse. Les résultats de cette étude ne sont pas encore publiés et sont présentés dans la discussion.

3.1.3 Construction des normes de réactions

3.1.3.1 En utilisant les points de rupture

Nous avons plusieurs points de rupture identifiés dans le cerne, auxquels correspond le même nombre de points de rupture identifiés sur l'indice climatique de la saison de végétation correspondante. La courbe décrivant la relation entre les points de rupture du profil de microdensité et les points de rupture de l'indice climatique est une norme de réaction et est de forme sigmoïdale (figure 4). Pour décrire cette courbe nous utilisons le modèle de régression non linéaire de Boltzmann (équation 1) :

$$y_{x,a,b,c,d} = b + \frac{c - b}{(1 + e^{(a(x-d))})} \quad \text{équation (1)}$$

Où : $y_{x,a,b,c,d}$ est la valeur observée de densité du point de rupture, a est la pente de la portion linéaire de la courbe, b est l'asymptote inférieure. Elle n'a pas été estimée car nous considérons que c'est une valeur de densité qui ne traduit pas une réponse à une contrainte hydrique, mais plutôt un point de départ. c est l'asymptote supérieure et d est le point d'inflexion de la courbe.

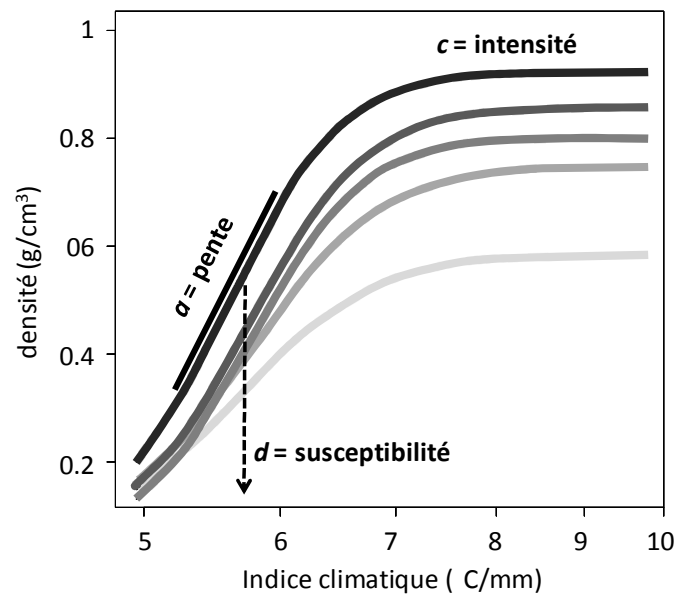


Figure 4 Normes de réaction individuelles. Les valeurs estimées à partir de l'ajustement Boltzmann peuvent être interprétées du point de vue biologique : a est la pente et mesure le taux maximal d'augmentation de la densité du bois en réponse à la diminution de la ressource en eau, c est l'intensité de cette réponse vers la fin de la saison de végétation

quand l'équilibre entre la demande évapo-transpiratoire des arbres et la disponibilité en eau dans le sol est déplacée vers un stress hydrique et d peut être interprétée comme la valeur qui mesure la susceptibilité (ou sensibilité) des arbres au climat. Elle est représentée par sa valeur sur l'axe x , correspondant à la valeur de l'indice climatique pour lequel l'augmentation de la densité du bois est égale à 50 %.

3.1.3.2 En utilisant les ondelettes

Pour mesurer la dendroplasticité à partir de l'approche utilisant les ondelettes, nous décrivons la norme de réaction par la pente d'une droite, car dans cette approche la norme de réaction n'est déterminée que par deux points. Les valeurs minimum et maximum de pas sur le cerne décrivent la variation de la densité du bois sur l'axe y . Les valeurs minimum et maximum de pas de l'indice climatique décrivent la variation de l'ampleur de la saison de végétation. La variable qui mesure la dendroplasticité est estimée donc par l'équation 2 :

$$pente = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \qquad \text{équation 2}$$

La *pente* mesure le taux d'augmentation observé de la densité du bois par rapport au changement du climat quand la disponibilité en eau diminue durant la saison de végétation, y_2 est la valeur maximum de la densité sur le cerne, représentant les

trachéides formées vers la fin de la saison de végétation, y_1 est la valeur minimale de la densité et donc représente les trachéides formées tout au début de la saison de végétation à un moment où les conditions climatiques sont plutôt favorables et sont représentées par la valeur minimale x_1 de l'indice climatique. X_2 représente les conditions climatiques plus défavorables correspondant à y_2 .

4 Propriétés hydrauliques du xylème : conductivité hydraulique spécifique et vulnérabilité à la cavitation.

Une étude sur trois des clones qui ont servi de matériel végétal dans cette thèse (Dalla-Salda et al. 2009) a permis d'établir l'existence de variation génétique pour des propriétés hydrauliques du xylème. L'échantillonnage a été fait dans le site le plus brutalement affecté par la canicule 2003 et dans un autre site qui n'a pas été affecté. Les résultats de ce travail ont été publiés par Dalla-Salda et al. (2009) et sont utilisés partiellement dans la discussion. Ils nous ont permis de mettre en évidence les dysfonctionnements physiologiques auxquels a été soumis le xylème des arbres suite à la canicule de 2003. Nous utilisons aussi dans la discussion des nouveaux résultats qui ont été obtenus sur un autre échantillonnage de sept clones de douglas, plantés à l'INRA d'Orléans. Trois arbres par clone ont été échantillonnés ($n = 21$) pour étudier les relations entre les propriétés hydrauliques du xylème et des variables microdensitométriques. Ces résultats additionnels sont actuellement en cours de publication.

4.1 Conductivité hydraulique spécifique

La conductivité hydraulique spécifique est une mesure de l'efficacité hydraulique du xylème par rapport à la section transversale du bois. Pour un même gradient de pression dans un tube creux, une légère augmentation du diamètre interne augmente fortement la conductivité hydraulique spécifique (Sperry et Tyree 1990, McElrone et al. 2004).

La méthodologie pour mesurer la conductivité hydraulique spécifique a été décrite par Dalla-Salda et al. (2009). Une aiguille de 2 mm de diamètre est insérée à l'extrémité d'une colonne remplie d'eau et piquée, sous l'eau, dans le bois du cerne sélectionné. Une colonne d'eau est connectée à son autre extrémité, se terminant par une micropipette graduée permettant de lire les variations de volume d'eau en fonction du temps. Le système a été rempli d'eau distillée colorée à la phloexitine, ce qui facilite la lecture et permet de vérifier en permanence l'absence de bulles d'air. De plus, on peut ainsi vérifier que l'eau colorée réapparaît bien de l'autre côté de l'échantillon dans la même portion de cerne que celle où est piqué l'aiguille.

La conductivité spécifique de l'aubier a été calculée selon la loi de Darcy (Edwards et Jarvis 1982), estimée par l'équation 3 suivante :

$$k_s = \frac{V * L * \eta}{t * A * \Delta P}$$

équation 3

Où V est le volume d'eau qui est passé par l'échantillon (m^3), L est la longueur de l'échantillon (m), η est la viscosité de l'eau à la température à laquelle l'expérience a été entreprise ($N \cdot s \cdot m^{-2}$), t est le temps (s), A la section (m^2) de l'aiguille et ΔP est la différence de pression (PA) entre les deux extrémités de l'échantillon.

4.2 Courbes de vulnérabilité à la cavitation

La vulnérabilité à la cavitation mesure indirectement les effets de la cavitation sur la conductivité hydraulique spécifique (Sperry et al. 1988, Sperry et Tyree 1990). Les courbes sont construites en utilisant un flux injecté sous pression modérée en conditions uniformes à travers un segment de bois qui a subi un certain niveau de stress hydrique. Cette conductivité est alors exprimée en pourcentage de la conductivité maximale. Des courbes décrivent alors le pourcentage de perte de la conductivité (PLC) en fonction du potentiel minimal subi par l'échantillon. A l'aide de ces courbes on a calculé la pression d'air requise pour entraîner la perte de 12 %, 50 % et 88 % de la conductivité (figure 5).

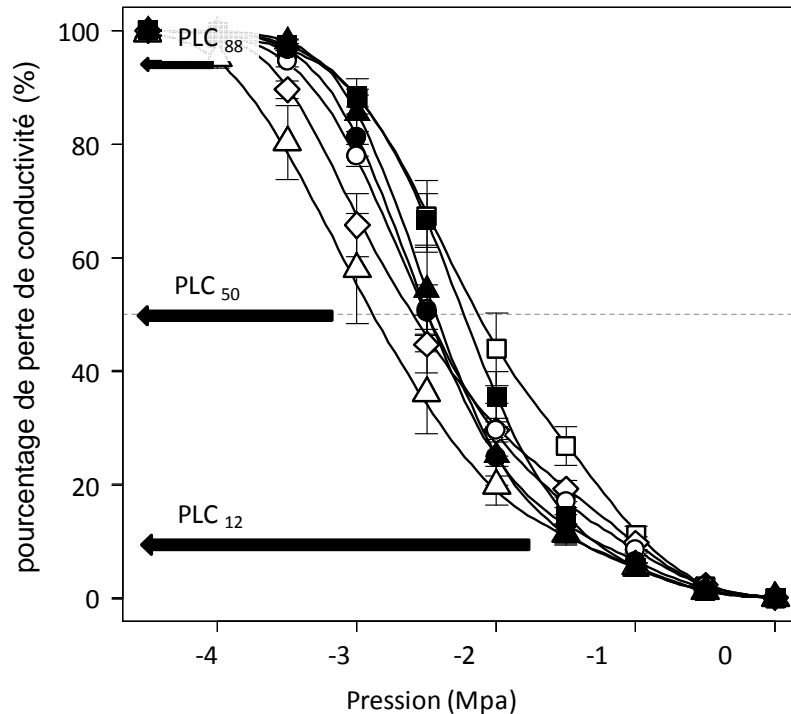


Figure 5 courbes de vulnérabilité à la cavitation par clone et leur variation. La valeur de plc_{12} représente le point de début de cavitation, c'est-à-dire la pression à laquelle commence l'aspiration de bulles d'air dans le système conducteur (Pammenter and Vander Willigen 1998), le plc_{50} est une mesure qui décrit la susceptibilité à la cavitation et le plc_{88} représente le point de cavitation irréversible (Domec and Gartner 2001).

Pour cette étude (Dalla-Salda et al. en préparation) les courbes ont été estimées en utilisant des Cavitrons (Cochard et al. 2002) qui utilisent la force centrifuge pour appliquer une pression négative différentielle à un segment de bois depuis une extrémité vers l'autre extrémité. De cette manière il est possible d'évaluer la perte de conductivité d'un

segment de bois soumis à une augmentation de la force centrifuge, qui reflète en sens inverse l'application d'une pression chaque fois plus négative suite au déficit hydrique sur le xylème.

5 Variables climatiques

Les données climatiques ont été fournies par Météo France. Elles proviennent de stations météorologiques situées à proximité de chaque site expérimental : les trois dispositifs de comparaison de clones (Chassenoix, Lartimache et Sorèze), et le test de comparaison de provenances situé à Vitry-aux-Loges, en Région Centre (Forêt d'Orléans). Les variables utilisées étaient la température quotidienne maximum, la température quotidienne minimum et les précipitations. Dans le chapitre 2 un indice climatique adapté de l'indice climatique de De Martonne (1926) a été construit à l'aide des températures maximum accumulées durant l'année en fonction des précipitations annuelles :

$$IC_{annual} = \frac{Tx_{annual}}{Pp_{annual}} \quad \text{équation 4}$$

Où IC_{annual} est l'indice climatique de l'année en question, Tx_{annual} est la somme de température maximales accumulées durant l'année et Pp_{annual} sont les précipitations totales de l'année. Cet indice climatique a été utilisé pour estimer l'indice climatique

standard de l'année 2003 par rapport à la moyenne de la période 1994-2004 dans le chapitre 2 en suivant l'équation 5 :

$$IC_s = \frac{IC_{2003} - IC_x}{sd IC_x} \quad \text{équation 5}$$

Où IC_{2003} est l'indice climatique de l'année 2003, IC_x est l'indice climatique moyen pour la période 1994-2004 et $sd IC_s$ est l'écart type de l'indice climatique pour la période 1994-2004.

Pour l'étude de la dendroplasticité (chapitre 3) l'indice climatique utilisé a été le suivant (équation 6):

$$IC = \frac{3 \times Tx + Tn}{10 + Pp} \quad \text{équation 6}$$

Où Tx est la température quotidienne maximum, Tn est la température quotidienne minimum et Pp est la précipitation quotidienne.

6 Le douglas : un résineux exotique en France

Le douglas est une gymnosperme, appartenant au groupe des résineux. Son fût, très droit, est constitué d'un bois très durable, facile à travailler. C'est d'ailleurs le principal

bois de construction en Amérique du Nord, d'où il est originaire (constructions navales, travaux hydrauliques et maritimes, panneaux de contreplaqué, décoration, menuiserie). Spécifiquement le douglas est originaire de la côte ouest des Etats-Unis (figure 6). Le douglas vert (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Mirb.) Franco) a été la variété introduite par la suite en Europe. C'est celle qui nous intéresse dans cette thèse. Les premiers douglas ont été introduits en France en 1842 dans un but ornemental. Le douglas n'a été utilisé comme essence de plantation forestière qu'à partir de la deuxième moitié du 19ème siècle. Depuis les années 1970, le douglas est devenu la première espèce de reboisement française avec le pin maritime (Héois 1994, Schermann 1994, Angelier 2007).

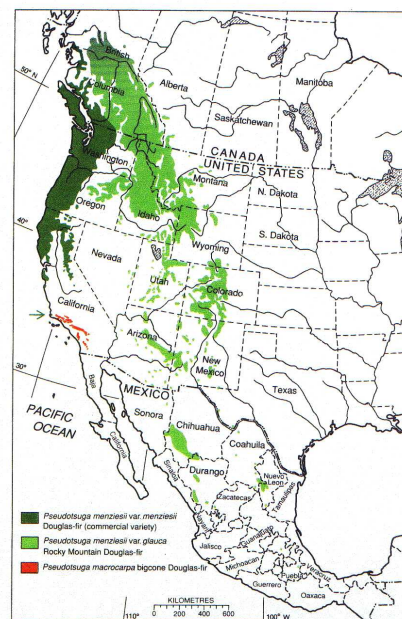


Figure 6 : distribution du douglas vert dans son aire d'origine. La figure montre l'ampleur de la distribution de l'espèce y compris la distribution de la variété de l'intérieur

(var. *glauca*) ou douglas bleu, et l'espèce *macrocarpa* (*Pseudotsuga macrocarpa* (Vasey) Mayr). Edité de Burdon et al. 1999.

Le douglas est relativement indifférent à la composition et à la richesse chimique du sol. Toutefois il tolère mal les sols avec du calcaire actif, compacts ou hydromorphes (Silen 1978, Angelier 2007). La pluviométrie annuelle conseillée est au moins égale à 700 mm/an et il lui faut notamment entre 250 et 400 mm (en fonction du sol) pendant les trois mois d'été. En France la région où on trouve la principale concentration de l'espèce est le Massif Central : le climat est caractérisé par des températures hivernales moyennes entre 1 et 5 °C et un nombre de jours de gel élevé (> 50), avec des précipitations supérieures à 1000 voire 1500 mm/an pour les parties plus arrosées et supérieures à 600 mm/an pour les moins arrosées.

En ce moment, la majorité des peuplements de douglas en France sont âgés de 20 à 40 ans, conséquence des investissements forestiers réalisés grâce au fond forestier National. Cela va constituer prochainement un atout majeur pour la filière forêt-bois française. La récolte annuelle de douglas devrait passer d'un niveau actuel de près de 2 millions de m³ à 5,5 millions de m³ en 2030 (Angelier 2007). Le bois de douglas est de plus en plus apprécié et de plus en plus utilisé.

6.1 La France est un gros producteur de douglas en devenir

La France dispose des surfaces plantées en douglas les plus importantes d'Europe, 390000 ha en 2004 (Thivolt-Cazat 2004), avec 50% de la ressource européenne. En France, le douglas est présent dans presque tous les départements, mais le grand Massif Central concentre à lui seul 225000 ha soit 67 % de la surface nationale (figure 7a et b).

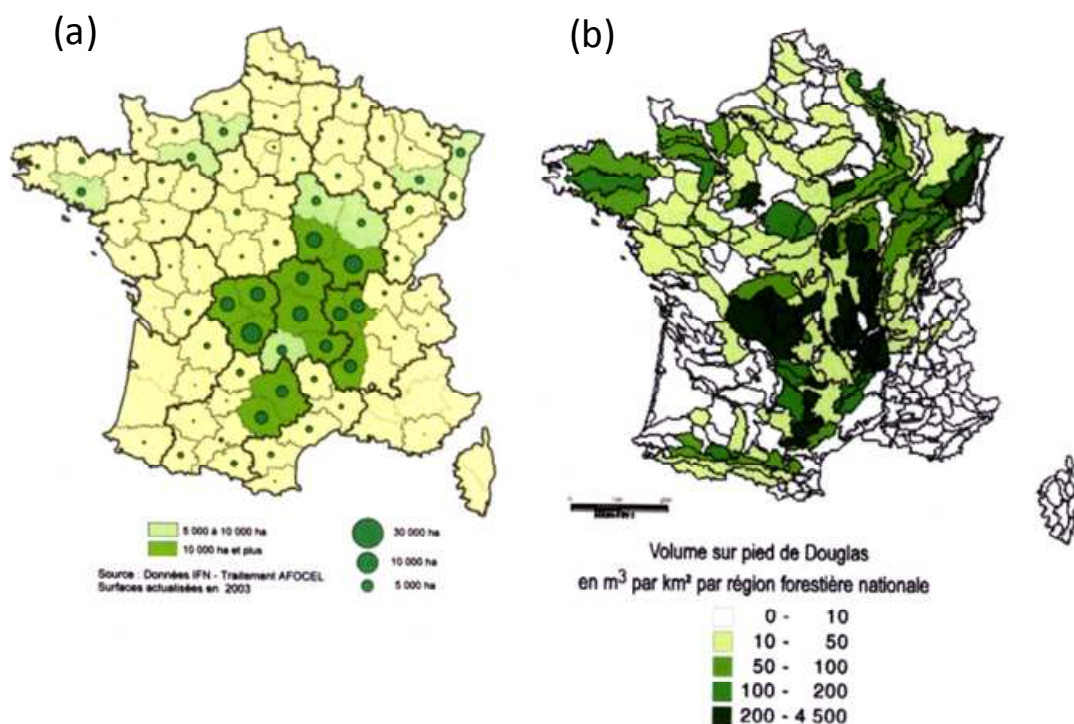


Figure 7 (a) répartition de la ressource en douglas, en surfaces par région (source Thivolt-Cazat 2004). (b) Répartition de la ressource en douglas, en volume sur pied par région (Edité d'Angelier 2007).

L'intensification de la production, sur une partie restreinte du territoire national, avec des essences à de forts rendements en bois de qualité peut s'envisager comme un moyen viable de combler une partie du déficit de la balance commerciale pour le poste bois.

6.2 Le douglas dans le contexte du climat à venir

Le douglas supporte les sécheresses estivales moyennes, mais il est beaucoup plus intolérant aux sécheresses exceptionnelles (de Champs 1997, Anekonda et al. 2002, Phillips et al. 2002). Les conséquences d'une sécheresse ne sont pas les mêmes selon qu'elle intervient en fin ou en début de saison de végétation et selon qu'elle est ponctuelle ou persistante dans le temps (Angelier 2007). Le comportement du douglas est intermédiaire entre celui d'essences tolérantes qui peuvent maintenir une activité transpiratoire et donc leur conduction d'eau jusqu'à un niveau de déficit hydrique du sol très élevé, et celui d'essences évitantes ou bloquantes qui arrêtent précocement leur transpiration de façon à économiser l'eau au maximum (Cochard 1992, Charnet 1999). Son indice foliaire élevé garantit l'efficacité des échanges gazeux donc la photosynthèse maximum, et son mode de régulation stomatique est caractéristique d'un comportement opportuniste à l'égard de la sécheresse. Mais le douglas est très sensible aux sécheresses exceptionnelles, comme celle de 2003, car sa régulation tardive le mène à un état de déshydratation qui peut s'accompagner de dommages physiologiques et entraîner la mort de l'arbre. De toutes les espèces analysées par le Département de la Santé des Forêts, le douglas a été le résineux le plus fortement touché en 2003 (DSF 2004). Des dégâts

généralisés ont été constatés principalement dans les régions où le douglas est fortement introduit : Morvan, Auvergne, sud et sud-est du Massif Central, en général dans les peuplements sur sols superficiels avec des réserves hydriques très faibles ou des pluviométries déjà limitées pendant les années normales (Angelier 2007). Ceci nous fait penser que dans la majorité des cas, les symptômes de mauvaise adaptation correspondraient à un mauvais choix de site de plantation. Toutefois, une espèce introduite comme le douglas pourrait être utilisée comme modèle pour mettre à l'épreuve des hypothèses d'adaptation au processus rapide de changement climatique global. La comparaison des arbres qui ont survécu et des arbres qui sont morts, les conséquences sur le processus de formation du bois et l'enregistrement bois de la réponse au climat permettraient d'expliquer les changements structurels dans les cernes de douglas suite à cet événement climatique extrême. En particulier on cherche à comprendre quel pourrait avoir été la relation avec des processus fonctionnels de type adaptatif comme la conduction de l'eau et la capacité à supporter des déficits hydriques extrêmes dans le xylème. L'étude de la plasticité phénotypique à partir de l'enregistrement de la densité du bois en réponse à des contraintes hydriques, sur des dispositifs expérimentaux génétiques fournira des informations sur la variation à l'intérieur de l'espèce et sur son héritabilité. Ces caractéristiques, ajoutées à la sensibilité observée face à des événements extrêmes de déficit hydrique, cités précédemment, font du douglas une espèce d'étude idéale pour tester des hypothèses en relation avec l'adaptation des arbres au changement climatique global.

6.3 Variabilité génétique : programme d'amélioration génétique du douglas de l'INRA.

En France le programme d'amélioration génétique du douglas a démarré au début des années 50. Il se poursuit jusqu'à maintenant avec des stratégies combinées pour assurer une très riche variabilité génétique qui permet de garantir une base génétique large pour le long terme. Les tests de comparaison de provenances, puis de provenances et descendances dans provenances, ont montré qu'il existait une forte variabilité génétique à la fois aux niveaux inter et intra provenance pour des caractères d'adaptation au milieu (Héois 1994), de vigueur, de forme et de qualité du bois (Christophe et Birot 1983, Bastien et al. 1985). Par ailleurs, ces caractères sont suffisamment héritable pour espérer réaliser des progrès génétiques significatifs (Schermann, 1994).

Il est connu que la densité du bois des espèces forestières est un caractère héritable (Cornelius 1994). Cette héritabilité, chez le douglas, correspond principalement à la portion additive de la variance génétique (Vargas-Hernandez et Adams 1991, 1994, Vargas-Hernandez et al. 1994, Johnson et Gartner 2006). Si nous prouvons que les caractères qui mesurent la plasticité phénotypique à partir de la densité du bois sont variables génétiquement et héritable, alors ceci revêtirait une grande importance, parce que ces caractères pourraient être soumis à la sélection naturelle ou artificielle et transmis de génération en génération.

Si nous parvenions à prouver qu'il existe une réaction différentielle dans la formation du bois initial et du bois final de différents génotypes à des événements climatiques

extrêmes, ou en d'autres termes, que le bilan entre la production de ces deux types de bois est un caractère qui a des conséquences sur la valeur adaptative (fitness), alors ceci révélerait que ce caractère a une importance adaptative face aux événements extrêmes de déficit hydrique. De même, le bilan des deux types de bois est d'une grande importance économique, puisqu'une plus grande proportion de bois final confère au bois une plus haute densité, qui est un caractère commercial très important et en conséquence susceptible d'être introduit dans des programmes d'amélioration (Zobel et Talbert 1984, Zobel et van Buijtenen 1989).

6.3.1 Description des dispositifs expérimentaux

Pour l'étude correspondant au chapitre 1 de la thèse, nous avons utilisé un dispositif de comparaison de provenances IUFRO-INRA d'Orléans planté dans la Région Centre, à la limite est de la Forêt d'Orléans. Pour l'étude de la variation génétique de la réponse à la canicule (chapitre 2) et de la dendroplasticité (chapitre 3) nous avons utilisé trois dispositifs clonaux du FCBA plantés dans trois régions différentes : le Limousin, le Morvan et Midi-Pyrénées (à Lartimache, Chassennoix et Sorèze, dans l'Ouest, Nord-est et Sud du Massif Central, respectivement), où le douglas a été fortement introduit (table 1), avec des nombres différents de clones selon les sites et neuf clones communs aux trois sites.

Table 1 Description des principales caractéristiques des dispositifs expérimentaux utilisés dans le cadre de la thèse.

Site	Forêt d'Orléans	Lartimache	Chassenoix	Sorèze
Dispositif	Comparaison de provenances artificielles françaises et nord-américaines. 130 arbres échantillonnés	30 clones échantillonnés dans un test de comparaison de clones. 3 à 5 arbres par clone.	23 clones échantillonnés dans un test de comparaison de clones. 3 à 5 arbres par clone.	22 clones échantillonnés dans un test de comparaison de clones. 3 à 5 arbres par clone.
Date de plantation	mars 1975	décembre 1984	mai 1988	mars 1986
Moyenne de température maximum (°C)	15,9	16,8	15,3	18,6
Moyenne de température minimum (°C)	6,0	6,3	5,0	8,8
Précipitation (mm)	748	1206	1212	929
Texture du sol	Sable grossier, reposant sur un horizon compact quasi imperméable ou argileux lourd	Limono, sablo argileux en surface, puis sablo argileux	Sable argilo-limoneux	Limono-argilo sableux

6.3.2 Estimation de paramètres génétiques : hérabilités et corrélations génétiques entre caractères.

L'hérabilité de la réponse immédiate et différée des arbres à la canicule 2003 ainsi que l'hérabilité des variables de microdensité classiques ont été estimées dans l'article 2 (chapitre 2) en utilisant le modèle linéaire. Le même modèle (équation 7) a été utilisé pour estimer l'hérabilité des variables de dendroplasticité dans l'article 3 (chapitre 3) et dans l'étude complémentaire développée dans la discussion de cette thèse sur la variable qui mesure la dendroplasticité en utilisant la méthodologie simplifiée à base d'ondelettes :

$$y_i = \mu + \tau_i + \varepsilon_i \quad \text{équation 7}$$

Où : y_i est la variable observée, μ est l'effet fixe de la moyenne, τ_i est l'effet aléatoire clone et ε_i est l'erreur aléatoire.

L'hérabilité estimée, l'hérabilité au sens large (H^2) et l'écart-type de l'hérabilité ont été estimés en suivant les équations 8 et 9, respectivement, selon Falconer et MacKay (1996) :

$$H^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_\varepsilon^2} \quad \text{équation 8}$$

Où : σ_g^2 est la variance génétique totale (portion additive et non additive) et σ_ε^2 est la variance de l'erreur.

$$s.e.H^2 = \sqrt{\frac{((2 * 1 + har - 1) * H^2)^2 * (1 - H^2)^2}{(har * (har - 1) * (n - 1))}} \quad \text{équation 9}$$

Où : *har* est la moyenne harmonique du nombre d'arbres par clone et *n* est le nombre de clones.

Le modèle linéaire a été utilisé dans l'article 3 pour estimer les corrélations phénotypiques et génétiques entre les variables de microdensité du bois et les variables de dendroplasticité dans chaque site et chaque année. Pour les corrélations génétiques nous avons utilisé l'équation suivante (équation 10) :

$$r_G = \frac{[\sigma_g(x+y) - (\sigma_g(x) + \sigma_g(y))]/2}{\sqrt{\sigma_g(x) * \sigma_g(y)}} \quad \text{équation 10}$$

Où : $\sigma_g(x+y)$ est la composante de la variance génétique du caractère 1 et du caractère 2, $\sigma_g(x)$ est la variance génétique du caractère 1 et $\sigma_g(y)$ est la variance génétique du caractère 2. L'écart-type des corrélations génétiques entre caractères a été estimé selon l'équation 11 :

$$s.e.r_G = \frac{1 - r_G^2}{\sqrt{2}} \sqrt{\left[\frac{s.e.H_x^2 * s.e.H_y^2}{H_x^2 * H_y^2} \right]} \quad \text{équation 11}$$

Où : H_x^2 et H_y^2 sont les héritabilités des caractères 1 et 2, respectivement, et $s.e.H_x^2$ et $s.e.H_y^2$ les écarts-type respectifs.

7 Etude de la relation entre les variables qui décrivent les propriétés hydrauliques du xylème et les variables de microdensité.

Cette étude a été réalisée en utilisant l'échantillonnage des sept clones de l'INRA d'Orléans (point 4 de l'introduction). Une analyse en composantes principales (ACP) au niveau arbre a été réalisée pour explorer les relations entre arbres et variables. Les arbres sont représentés en fonction de leurs coordonnées sur les composantes principales. Les points proches correspondent à des arbres ayant des réponses proches par rapport aux variables prises en compte dans l'analyse. Les variables sont également représentées sur les plans factoriels principaux de manière complètement indépendante des individus. Leur représentation indique leur corrélation avec les composantes principales. La représentation des variables renseigne sur le sens à donner aux axes. Dans la table suivante nous présentons les variables considérées dans l'analyse.

Table 2 Abréviations des variables étudiés et description.

	Variables	Description
éco-physiologiques		
	K_s	Conductivité hydraulique spécifique (m^2)
	plc12	la valeur correspondant à 12 % de perte de conductivité
	plc50	la valeur correspondant à 50 % de perte de conductivité
	plc88	la valeur correspondant à 88 % de perte de conductivité
Microdensité		
	l	largeur du cerne (mm)
	m	densité moyenne du cerne (g/cm^3)
	dbi	densité du bois initial (g/cm^3)
	dbf	densité du bois final (g/cm^3)
	pbi	pourcentage de bois initial (%)
	seq	moyenne des 100 premières valeurs de microdensité du cerne (g/cm^3)

8 Qu'attendons-nous de ces recherches ?

La façon dont certaines espèces forestières peuvent s'adapter au changement climatique en maintenant des niveaux acceptables de productivité est incertaine. L'identification de génotypes avec de meilleurs niveaux d'adaptabilité à des événements climatiques extrêmes est une priorité dans les programmes d'amélioration génétique.

Des profils de microdensité du bois ont été largement utilisés dans des programmes d'amélioration génétique pour la sélection de génotypes avec des caractéristiques désirables pour certaines propriétés de base du bois. La densité intègre des propriétés anatomiques du bois, qui sont liées aux propriétés hydrauliques du xylème comme la conductivité et la résistance à la cavitation. Des populations d'arbres soumis à des stress hydriques réduisent leur croissance et/ou leurs performances. Les génotypes avec un haut degré de plasticité phénotypique face aux stress environnementaux

auraient une plus grande probabilité de survie. Si nous arrivons à établir que les arbres réagissent de manière différente à des événements extrêmes de hautes températures et déficits hydriques et que cette réaction est héritable, la plasticité phénotypique revêtirait alors une grande importance adaptative, puisque les arbres avec la valeur adaptative (fitness) la plus importante face aux événements extrêmes inhabituels transmettraient cette résistance à leurs descendants. La variation génotypique de la plasticité phénotypique et des variables de microdensité nous permettrait de déterminer la valeur du bois comme marqueur adaptatif chez les arbres forestiers.

Cependant, la microdensité n'a pas encore été utilisée pour l'identification de génotypes mieux adaptés aux conditions de déficit hydrique. On espère que les résultats et les conclusions de cette étude apportent de nouvelles connaissances dans le domaine des sciences forestières et qu'elles pourront être appliquées dans les programmes d'amélioration génétique, en contribuant en outre à la compréhension des mécanismes d'adaptation des arbres à des événements extrêmes de sécheresse et chaleur.

Chapitre 1

[Article 1]: What is hot in tree rings? The wood density of surviving Douglas-firs to the 2003 drought and heat wave.

Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Pastorino, M., Gallo, L., Rozenberg, P., *Forest Ecology and Management* (2008) 256: 837–843.

La densité du bois a-t-elle eu un effet sur la survie du douglas à la canicule 2003 ?

Dans un dispositif de comparaison de provenances de douglas situé à proximité d'Orléans, Région Centre, avec 690 mm de moyenne de précipitations annuelles, où une mortalité apicale ou totale du houppier a été constatée après la canicule de 2003, nous avons échantillonné 65 arbres vivants et 65 arbres morts. Au niveau arbre nous avons étudié la densité moyenne du tronc et le diamètre. Au niveau cerne, nous avons comparé la largeur du cerne, la densité moyenne du cerne, la densité minimum et maximum du cerne, la densité moyenne du bois initial, la densité moyenne du bois final et le pourcentage de bois final pour les cernes compris entre 1986 et 2002, soit tous les cernes disponible dans tous les arbres étudiés avant le cerne de la canicule. Nous partons de l'hypothèse nulle que les différences entre arbres vivants et arbres morts pour les variables étudiées sont dues au hasard ($P = 0,05$), c'est-à-dire, qu'il n'y a pas des différences dans la façon dont les arbres réagissent aux contraintes du milieu et que la mortalité n'est pas liée à des différences pour ces propriétés du bois. Nous comparons la distribution des écarts entre chaque arbre vivant et son voisin mort à des distribution d'écarts entre arbres de paires constituées au hasard, sans prendre en compte l'état sanitaire. Si les écarts entre arbres vivants et morts sont non significativement différents des écarts entre les arbres associés au hasard, nous ne pouvons pas rejeter l'hypothèse nulle.

Nous avons trouvé des différences significatives entre arbres vivants et morts pour certains paramètres de microdensité du cerne, donc nous rejetons l'hypothèse de nullité au moins pour ces paramètres. Les arbres vivants ont une densité moyenne du

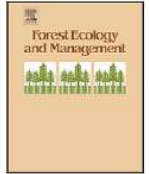
tronc, une densité moyenne du cerne, une densité maximum du cerne et une densité et proportion du bois final significativement plus élevées que les arbres morts. Les différences entre les deux groupes d'arbres (vivants contre morts) ont été trouvées principalement pour les variables du bois final, celui qui est formé pendant la fin de la saison de végétation en conditions défavorables du point de vue du bilan hydrique du sol. Ces différences significatives sont plus importantes dans les derniers cernes avant le cerne 2003.

Cette étude nous a permis de démontrer que la densité du bois est impliquée dans la capacité de survie du douglas confronté à des conditions climatiques extrêmes de manque d'eau. La densité du bois a donc un impact sur la valeur adaptative (fitness). Les arbres survivants, avec une densité plus élevée dans la partie finale du cerne auraient une plasticité phénotypique plus élevée que les arbres morts, liée à une meilleure résistance à la sécheresse.



Contents lists available at ScienceDirect

Forest Ecology and Management

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foreco

What is hot in tree rings? The wood density of surviving Douglas-firs to the 2003 drought and heat wave

Alejandro Martinez-Meier^{a,b,*}, Leopoldo Sanchez^b, Mario Pastorino^{a,c}, Leonardo Gallo^a, Philippe Rozenberg^b

^a INTA Bariloche, Unidad de Genética Forestal, C.C. 277, 8400 S.C. de Bariloche, Argentina

^b INRA Orléans, Unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestières, 2163 Avenue de la Pomme de Pin, BP 20619, Ardon, 45166 Olivet Cedex, France

^c Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 March 2008

Received in revised form 21 May 2008

Accepted 24 May 2008

Keywords:

Heat wave

Climate change

Phenotypic plasticity

Adaptation

Microdensity profile

Pseudotsuga menziesii

ABSTRACT

In a global warming scenario, drought and heat waves like the one that occurred in 2003 in Europe are expected to become more intense and frequent. This extreme climate event strongly affected the hydraulic balance in many forest tree species including Douglas-fir, with symptoms ranging from partial crown necrosis to death. We studied a French Douglas-fir provenance trial, strongly affected by the 2003 drought and heat wave. Using wood X-ray microdensity profiles as a record of cambium response to environmental variations, we compared mean stem density and growth between dead and alive neighbouring trees and several microdensity characters measured over 17 growth rings previous to 2003. Special attention has been given to the sampling layout in order to minimize the micro-environmental effects. At tree level, surviving trees have a significantly higher mean stem density. At tree ring level, they have a significantly higher mean ring density, maximum ring density, latewood density and, to a lesser extent, latewood proportion. No significant difference was found for diameter growth. These results could have direct implications in the way to study and predict possible acclimation and adaptation of forest trees to climate change process. Wood could be used for the selection of genotypes with a desirable plasticity and resistance to drought induced-cavitation.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Wood is a temporal record of tree by environment interactions. In a typical temperate conifer tree, early-season growth produces wood cells (tracheids) with thin walls and big diameter lumens commonly called earlywood. Towards the end of the growing season, tracheids are formed with thick walls and small diameter lumens named latewood. The anatomical change through the growing season is easily revealed by an increase in within ring wood density, which forms the well-known pattern of earlywood–latewood concentric growth rings. However, tree response to environmental conditions also happens at lower physical and temporal scales. For instance, discrete drought events during the growing season can trigger remarkable peaks of density in the wood, called false rings (Zahner, 1968; Glerum, 1970; Rozenberg et al., 2002).

Wood density record reflects the cambial activity of a plant caused by environmental signals, and wood density profiles can be used to infer individual plasticity. Here, we define plasticity as the capacity of a given genotype to modify its phenotype as a response to environmental variations (Dewitt and Scheiner, 2004). Plasticity is thus an individual response, different from evolution, which is generally defined as a successful change through selection in the genetic composition of a population submitted to an environmental shift. Up to now, between-ring wood records have been the focal interest of dendrochronology, relying on large temporal series at population level to study local climate variations (Douglass, 1933; Fritts, 1976). Smaller scale within-ring variations at individual level as response to climatic events have received less attention (Rozenberg et al., 2001).

The different types of wood formed during early and late growing season have very different hydraulic properties (Domec and Gartner, 2001). In Douglas-fir, under normal climate conditions, sap flows in latewood tracheids could be neglected compared to early-season tracheids (Domec and Gartner, 2002). Hydraulic imbalances, as a result of low soil water content and strong atmospheric demands, can induce generalized cavitation in

* Corresponding author. Tel.: +33 238417873; fax: +33 238417879.

E-mail addresses: alejandromartinez@orleans.inra.fr, almarti@bariloche.inta.gov.ar (A. Martinez-Meier).

xylem tracheids (Tyree and Sperry, 1989; Domec and Gartner, 2002; Taiz and Zeiger, 2006). This unfavourable phenomenon occurs when, following a sudden water deficit, the internal pressures become negative enough to overcome the potential of xylem dysfunction (Cochard, 1991) and the water column inside the tracheids breaks (Tyree and Zimmerman, 2002). Ultimately, adult trees may die as a result of long and/or intense drought events (Mueller et al., 2005; Bréda et al., 2006).

Within the global warming perspective, extreme climate events are expected to increase in frequency and intensity (Levinson and Waple, 2004; Meehl and Tebaldi, 2004; Schär et al., 2004; Salinger, 2005; IPCC, 2007), providing forest trees little opportunity to migrate or to evolve in place (St. Clair and Howe, 2007). Therefore phenotypic plasticity could play a principal role in the acclimation or/and adaptation process to the new climate changes scenario. The year 2003 in Europe was considered a signal of the global warming process, being for instance the most severe heat wave in France since the year 1370 (Chuine et al., 2004). Abnormal ecophysiological reactions were reported as consequences of this heat wave in many trees (Bréda et al., 2004). Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco), a conifer species planted abundantly in Europe and particularly in France (De Champs, 1997; Thivolle-Cazat, 2004), was strongly affected (DSF, 2004; Rozenberg and Pâques, 2004; Martinez-Meier et al., 2008). Symptoms ranged from partial foliage necrosis to individual death. Yet, some Douglas-firs neighbouring the affected trees had no visible damage. The genetic background and the micro-environmental conditions certainly play an essential role in tree survival. Besides that, we questioned whether the wood of dead and living trees, as records of their particular reactions to past weather, showed a systematic difference that could hint a lack in plasticity or adaptation in the dead trees. As far as we know, this kind of study has not been undertaken yet. In species with great water demand, like Douglas-fir, the global warming process could act as a strong selective force. Under extreme climate events, wood density changes would have an impact on the integrity of trees hydraulic system and, ultimately, affect their fitness.

By using fine scale analysis of wood records based on X-ray microdensity profiles, we compared microdensity parameters between Douglas-fir individuals that had not survived the drought and heat wave of 2003 and their neighbouring surviving trees. Attention has been given to the sampling layout and the statistical analysis in order to minimize the micro-environmental effects. The eventual use of certain wood record characteristics to predict a tree's potential acclimation was subsequently discussed.

2. Materials and methods

We identified 65 dominant adult trees that were dead soon after the 2003 drought and heat wave. All dead trees presented the same damage, a total foliage necrosis. These trees were part of a large Douglas-fir provenance trial established in March 1975, located in Region Centre, France (2°16'E, 47°57'N). The trial site receives a mean annual precipitation of 690 mm and has flat sandy soil. A wood sample from each of the 65 dead trees was obtained coupled with another wood sample from the nearest dominant living tree, resulting in 65 dead vs. alive pairs of trees. Collection date was between April and June 2006. Sixty provenances were represented in the sample, thus most of them have only one tree per provenance. Wood samples consisted of 5 mm diameter increment cores, taken perpendicularly at the stem axis at breast height. No fungal or/and others damages were found in the increment cores of sampled trees. Increment cores were analyzed by indirect X-ray densitometry (Polge, 1966) and the resulting X-ray films were scanned at a 1000 dpi resolution with 8 bits depth per pixel. The digital images were processed with WinDENDRO

software (Guay et al., 1992), obtaining a final spatial resolution of 25 μm .

The complete density profiles (Fig. 1) were used to estimate mean stem density and diameter growth for each tree following the methodology described in Rozenberg et al. (1997).

Microdensity data was computed yearly from 1986 to 2002 rings (17 years), by using a function written in R language (R Development Core Team, 2008). We described each of the tree-rings of the above period by seven of the most commonly used descriptors among users of microdensity profiles. These descriptors were: ring width, mean ring density, minimum ring density, maximum ring density, earlywood density, latewood density and latewood proportion. Earlywood and latewood densities were taken as the average density of their respective ring portion computed by the mean of the extreme density values in each ring (Zamudio et al., 2005). In order to avoid the eventual effects of a non-random distribution of dead trees

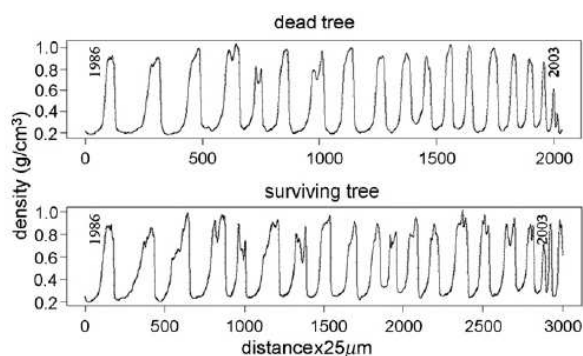


Fig. 1. Microdensity profiles of two trees: one tree that survived 2003 but perished in the following year and a surviving tree, from our sample in Orléans Douglas-fir forest.

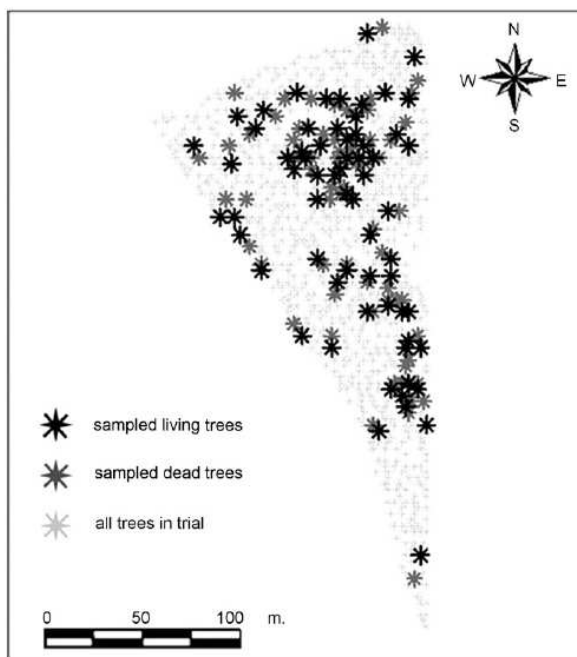


Fig. 2. Tree distribution in provenance trial and pairs of sampled trees (dead and associated living trees).

across the trial, and minimize the impact of micro-environmental differences onto the dead versus surviving comparison, each dead tree was systematically associated to an adjacent living tree with no apparent signs of damage (Fig. 2). We assumed, therefore, that each living tree shares the same physical environment than its associated dead tree.

Then, the difference between the value of the living tree and the value of its associated dead tree was computed for: mean stem density, diameter growth and for seven ring variables, in all years. Resulting means over the 65 pairs for each variable were computed (denoted D1 to the observed mean difference in mean stem density and diameter growth and $D1_{ij}$ for variable i in year j in the case of ring variables). In order to construct a reference distribution for each estimator (mean stem density, diameter growth and 7 ring variables times 17 years), from which inferences over D1 and $D1_{ij}$ could be made, we used a Monte-Carlo randomization approach (Mainly, 1997).

This randomization approach used as reference population all the trees of the analyzed 65 pairs. These 65 random pairs were subsequently formed from this reference population, without replacement and with no consideration of health status, and differences for all variables computed and stored. This re-sampling preceded over 1000 replicates, and distributions for all variables were constructed across the replicates. These distributions corresponded to the expected difference between any two given trees, D0, or a difference that is due purely to chance. Randomization was carried out using a Monte-Carlo routine written in R language (R Development Core Team, 2008).

Each observed difference, D1 (for mean stem density and diameter growth) and $D1_{ij}$ (7 ring variables from 1986 to 2002), was compared to its corresponding distribution of D0 and $D0_{ij}$, and

Table 1

Average, D1 differences and standard deviation and p -value for mean stem wood density and diameter growth in surviving and dead Douglas-fir trees

	Mean stem density (g/cm ³)	Diameter growth (mm)
Average surviving trees	468.41 ± 37.33	229.29 ± 40.42
Average dead trees	457.28 ± 30.67	226.47 ± 39.94
D1 differences	11.13 ± 47.74	2.82 ± 51.77
Significance	0.031	0.364

the standardized area left to the right by D1 and $D1_{ij}$ in the distribution of D0 and $D0_{ij}$ was computed as the probability of the observed difference being due by chance, respectively. We assumed a significance threshold of 0.05, for a one tail test.

3. Results

In preliminary analyses, not presented here, we did not find significant provenance effect for crown symptoms following the 2003 drought and heat wave. However, the provenance structure of the trial was strongly unbalanced at the date of the sample collection, because the trial had already been thinned twice, which left many provenances with very few trees and significantly decreased the statistical power of the original experimental design.

For all the surviving trees, the last complete ring in the microdensity profiles was the ring before the collection date, ring 2005. For the dead trees, the last complete ring was that of 2003 for 51 trees, ring 2004 for 8 trees and ring 2005 for 6 trees. That means that 15 dead trees did not die immediately after 2003, but one or two years later. Nevertheless, rings 2004 and 2005 of these latter trees were all very narrow, typical of trees under stress (Fig. 1).

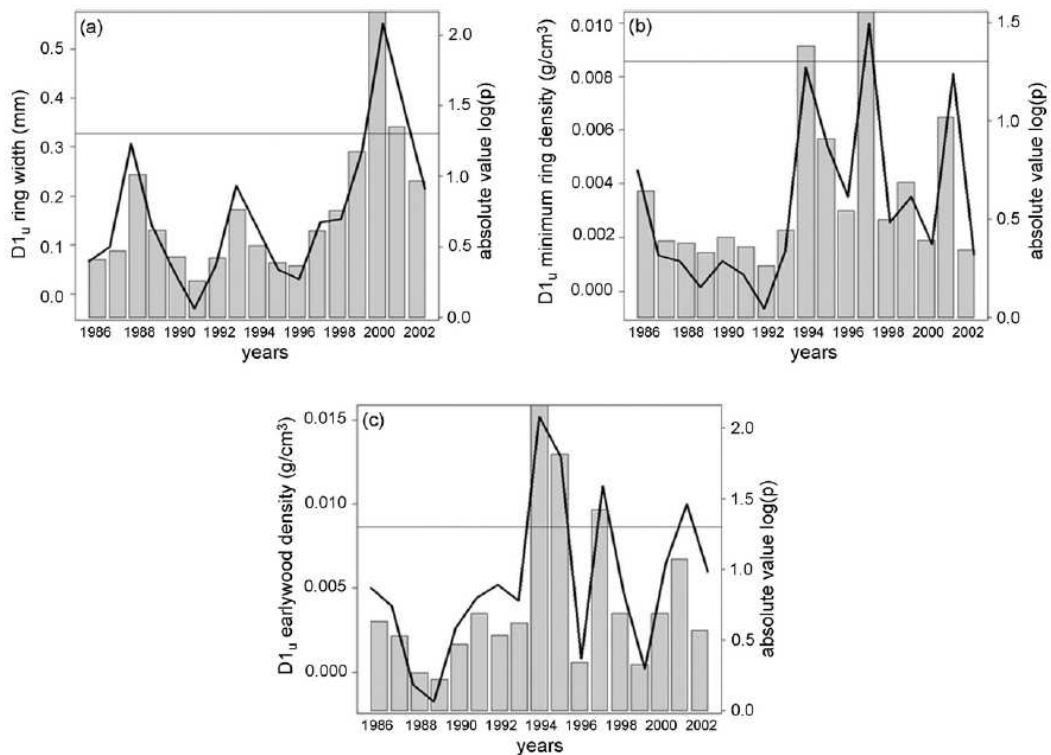


Fig. 3. Differences between living and dead trees for variable i and year j ($D1_{ij}$) for ring width (a), minimum ring density (b) and earlywood density (c) in solid line. The solid grey bars show the \log_{10} of the probability associated to $D1_{ij}$ in the Monte-Carlo randomization process. The horizontal line represents the 5% significance level.

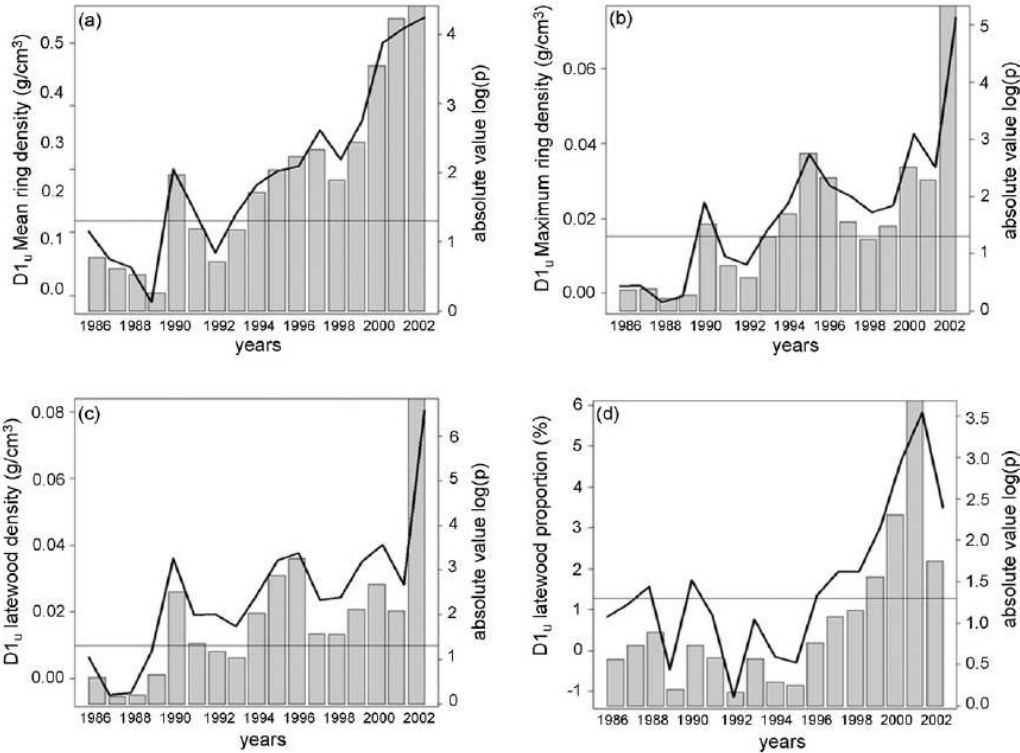


Fig. 4. Differences between living and dead trees in variable i in year j ($D1_{ij}$) for mean ring density (a), maximum ring density (b), latewood density (c) and latewood proportion (d). The solid grey bars show the \log_{10} of the probability associated to $D1_{ij}$ in the Monte-Carlo randomization process. The horizontal line represents the 5% significance level.

Table 1 shows averages and confidence intervals for dead and living trees for mean stem density and diameter growth. The result shows that surviving trees have a significantly higher mean density than dead trees, but are not significantly different for diameter growth.

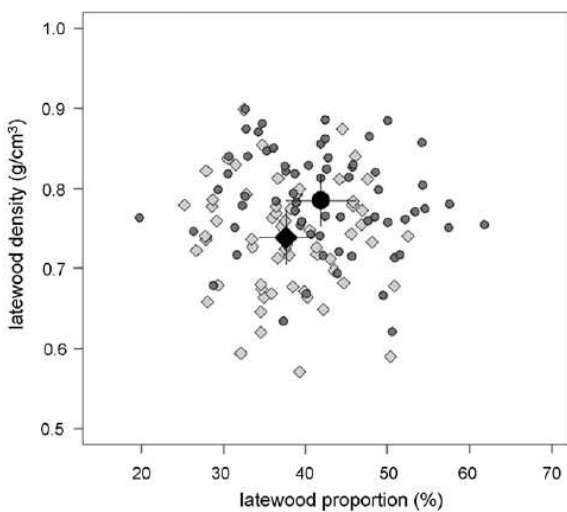


Fig. 5. Illustration of the mean latewood density and mean latewood proportion in living (dark grey circles) and dead (light grey diamonds) trees, for the outermost year-rings (from 1999 to 2002). Full big circle and diamond and their solid lines represent the mean value and standard deviation of each group of trees (living and dead trees, respectively).

Figs. 3 and 4 show the development of differences ($D1_{ij}$) between the surviving and the dead trees over years, as well as the associated levels of significance. The grey bars values over the horizontal line correspond to significant differences from what would be expected from a random pair, thus meaning that the surviving trees are significantly different from the dead trees.

For these three variables in Fig. 3, the surviving trees appeared not to be significantly different from their dead counterparts, except in ring-years 2000 and 2001 for ring width, in ring-years 1994 and 1997 for minimum ring density and in ring-years 1994, 1995 and 1997 for earlywood density.

Figs. 3 and 4 represent results for mean ring density (a), maximum ring density (b), latewood density (c) and latewood proportion (d).

Dead and surviving trees appeared to be significantly different for mean ring density, maximum ring density and latewood density from 1994 to 2002, except for maximum ring density in 1998. Dead and surviving trees were significantly different too for the three previous variables in 1990 and in 1991 for latewood density. For latewood proportion (d), the surviving and the dead trees are significantly different from 1999 to 2002.

The significant differences between surviving and dead trees were related generally to the second part of the growing season. Surviving trees tend to have a higher latewood density and a higher latewood proportion in the outermost ring (Fig. 5).

4. Discussion

4.1. Wood density and its implication on tree hydraulics

One of the main consequences of the 2003 drought and heat wave for the trees was a dramatic reduction in growth, which is

usually operated through stomata closure as response to a strong atmospheric demand and to a decrease in soil water availability (Bréda et al., 2004, 2006). If drought increases in length and intensity, cavitation is likely to occur in the xylem, followed by early mortality of roots and twigs (partial necrosis) and, ultimately, by tree death (Mueller et al., 2005; Bréda et al., 2006).

In Douglas-fir, under favorable hydraulic conditions, water transport is mainly (more than 80%) done through the earlywood of the outermost rings (sapwood) (Domec and Gartner, 2002). The research described in this paper shows that the trees that survived the 2003 extreme drought and heat wave have in several previous to 2003 tree rings, a higher mean ring density due to a higher proportion of denser latewood. Thus the significant differences in the latewood components found in this study, principally in the outermost rings, suggest that variation in latewood characteristics may be related to resistance to drought, helping trees to maintain the integrity of their hydraulic system.

The corresponding hypothesis is that their latewood quantity and characteristics increase the resistance to cavitation. In other words, a higher proportion of higher latewood density tends to increase resistance to drought. If this was the case, what was the physiological mechanism involved? We assume that the death of a number of trees following the 2003 climate event is a consequence of a generalized embolism in conductive rings. Conversely, the survival of other trees is certainly related to a better preservation of conductivity in their hydraulic system. How a higher proportion of higher density latewood may explain the preservation of the conductivity? Some authors emphasize that high latewood/earlywood ratio could be an adaptive hydraulic trait in Douglas-fir (Domec and Gartner, 2002), others highlight the water storage capacity of latewood (Waring and Running, 1978; Beedlow et al., 2006) that could be made available after earlywood becomes no longer conductive (Schiller and Cohen, 1995; Domec and Gartner, 2002).

The apparition and propagation of embolism can be explained, by xylem structure, i.e. wall thickness/lumen diameter ratio and/or pit characteristics (Cochard, 1991; Hacke et al., 2001; Sperry et al., 2006; Pittermann et al., 2006). At least in Douglas-fir, density is strongly related with lumen diameter (Rathgeber et al., 2006). According to our knowledge no results have been published about a possible relationship between wood density and pit characteristics. Is the variation of lumen diameter alone able to explain the observed mortality rate? Is the observed variation for latewood proportion and density large enough to explain a delayed apparition and propagation of embolism in the surviving trees? Simultaneous studies taking into account the variation of ring density components and adaptive traits related to wood conduction properties and/or wood anatomical characteristic are necessary to try to answer these questions.

4.2. Xylem plasticity

During a growing season, wood density follows a curve that reflects cambial activity as a function of environmental variations (Zahner, 1968; Sanchez-Vargas et al., 2007). This can be interpreted as the way in which a particular genotype responds to environmental variations, and that is a measure of phenotypic plasticity. With a rapid global warming scenario (IPCC, 2007), this individual plastic response may play an important role in the acclimation to new environmental conditions (Bréda et al., 2006; Rennenberg et al., 2006; Saxe et al., 2001). In forest species with long generation periods, trees that respond to environmental shifts with beneficial plastic changes can have more chance of survival. Our results suggest that surviving trees responded by producing a particular type of latewood, showing certain respon-

siveness to the environmental stress produced by summer conditions during the last part of the growing seasons and that dead trees lacked. This distinctive response was systematic over several years before 2003, and was not restricted to punctual discrete annual events.

The significant differences that we found between the dead and the surviving trees can be interpreted as a faster transition during the growing season from a similar earlywood to a higher density latewood for the surviving trees. In other words, the surviving trees were more plastic than the dead trees. But, to confirm this hypothesis, it is necessary to synchronize wood formation and climate variation, since in the microdensity profiles wood variation describes distance and not time. This synchronization is the subject of another, on-going study. If the increase of the latewood density components is truly related to resistance to drought, which is still to be proved, then the surviving trees could be regarded as more plastic in terms of wood formation and improving their resistance to drought. The plasticity of wood formation (i.e. xylem plasticity) as a function of climate deserves greater attention when studying the biology of adaptation. The approach using dead versus surviving trees following extreme events may be fruitful in the study of plasticity and adaptation over future climates.

4.3. Long-term response

At the risk of oversimplification, keeping in mind the relatively limited scope of this study, we could assume that some degree of selection against trees with low density wood may happen after heat wave events like the one in 2003. This kind of event might become more frequent under the general scenario of climate change (Meehl and Tebaldi, 2004; IPCC, 2007), where not only an increase in mean temperature is expected, but what is more important, an increase in variation in temperatures and precipitations. Therefore, repeated events of extreme heat might subsequently deplete low density trees in favour of those with higher density. Moreover, many references state the high levels of genetic control behind wood density characteristics (Zobel and van Buijtenen, 1989; Zobel and Jett, 1995). This is particularly evident in Douglas-fir (Gonzalez and Richards, 1988; King et al., 1988; Loo-Dinkins and Gonzalez, 1991; St. Clair, 1994; Vargas-Hernandez et al., 1994; Johnson and Gartner, 2006). High heritability traits subjected to directional selection are expected to yield rapid phenotypic shifts. However, whether this phenotypic drift is actually occurring or not is beyond the scope of this study. We could also assume that neither wood density nor its basic components are direct targets of natural selection. Although the link between wood density and tree hydraulic properties seems a good conceptual approach, natural selection could operate on other basic traits having as side-effect an increase in wood density. This could happen through underlying pleiotropy or by physical constraints.

We should note nevertheless that Douglas-fir is a relatively young introduction in France, directly from their natural habitats on the West coast of North America.

4.4. Consequences in tree breeding programs

Up to now studies of wood physical properties have had principally two distinct objectives: the study of wood quality and the reconstruction of past climates (i.e. dendrochronology). Few attempts have been made to use wood density as an indicator of the reaction of trees to immediate climate, and as a measure of plasticity; that is malleable by directional selection (Scheider and Lyman, 1989; Gibert et al., 2004). Recently, some authors pointed at this possibility, by showing that some microdensity variables are

good indicators of extreme climate events (Rozenberg et al., 2002; Bower et al., 2005; Martinez-Meier et al., 2008), and that they seem to have significant genetic control (Rozenberg et al., 2004; Martinez-Meier et al., 2008).

5. Conclusions

Trees surviving 2003 heat and drought wave have a significantly higher mean ring density, higher latewood density and higher latewood proportion. The increased latewood density components in surviving trees could be related to xylem plasticity and this could be linked to a resistance to drought.

We showed in this study that it may be possible to predict the susceptibility to extreme climate events on the basis of ring density parameters. Microdensity profiles are useful to infer the plasticity of wood formation related to climate variation and tree adaptation in the context of the global warming scenario. This opens up possibilities in tree breeding programs, because mean ring density is under high genetic control, and could be considered as a candidate to improve drought tolerance. Moreover, wood density is usually positively correlated with overall wood quality. In any case, it will be necessary to validate these results over a wider range of populations, to confirm the adaptive value of wood density, as well as to quantify the genetic variability for these traits in remaining French Douglas-fir populations.

Acknowledgments

We would like to thank Frédéric Millier for helping us with the X-ray microdensity profiles and Guillermina Dalla-Salda for her valuable commentaries in the revision versions of the manuscript. Research was funded by Project Alfa II-266 GEMA (GENética de la Madera), supported by European Commission and the plant material that was used in this study was provided by INRA Orléans. We thank the anonymous reviewers for the valuable and helpful commentaries that helped us to improve substantially the final version of this manuscript.

References

- Beedlow, P., Tingey, D., Waschmann, R., Phillips, L., Johnson, M., 2006. Bole water content shows little seasonal variation in century-old Douglas-fir trees. *Tree Physiol.* 27, 737–747.
- Bower, A., Adams, T.W., Birkes, D., Nalle, D., 2005. Response of annual growth ring components to soil moisture deficit in young, plantation-grown Douglas-fir in coastal British Columbia. *Can. J. For. Res.* 35, 2491–2499.
- Bréda, N., Granier, A., Aussenac, G., 2004. La sécheresse de 2003 dans le contexte climatique des 54 dernières années: analyse éco-physiologique et influence sur les arbres forestiers. *Revue Forestière Française* 56, 109–131.
- Bréda, N., Huc, R., Granier, A., Dreyer, E., 2006. Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of eco-physiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Ann. For. Sci.* 63, 625–644.
- Chuine, I., Yiou, P., Viovy, N., Seguin, B., Daux, V., Le Roy Ladurie, E., 2004. Historical phenology: grape ripening as a past climate indicator. *Nature* 432, 289–290.
- Cochard, H., 1991. Vulnerability of several conifers to air embolism. *Tree Physiol.* 11, 73–83.
- De Champs, J., 1997. *Le Douglas*. Afocel, Paris.
- Dewitt, T., Scheiner, S.M., 2004. Phenotypic Plasticity. Functional and Conceptual Approaches. Oxford University Press Inc.
- Domec, J.C., Gartner, B.L., 2001. Age- and position-related changes in hydraulic versus mechanical dysfunction of xylem: inferring the design criteria for Douglas-fir wood structure. *Tree Physiol.* 22, 91–104.
- Domec, J.C., Gartner, B.L., 2002. How do water storage differ in coniferous earlywood and latewood? *J. Exp. Bot.* 53, 2369–2379.
- Douglass, A.E., 1933. Evidences of cycles in tree ring records. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 19, 350–360.
- Département de la Santé des Forêts, 2004. Sécheresse et canicule de l'été 2003. Quelle incidence visuelle sur les peuplements forestiers? Information Santé des Forêts. Available in: http://www.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/isfweb_long.pdf.
- Fritts, H.C., 1976. *Tree Rings and Climate*. Academic Press, London.
- Gibert, P., Moreteau, B., David, J.R., 2004. Phenotypic plasticity of body pigmentation in *Drosophila melanogaster*. Genetic repeatability of quantitative parameters in two successive generations. *Heredity* 92, 499–507.
- Glerum, C., 1970. Drought ring formation in conifers. *For. Sci.* 16, 246–248.
- Gonzalez, J.S., Richards, J., 1988. Early selection for wood density in young coastal Douglas-fir trees. *Can. J. For. Res.* 18, 1182–1185.
- Guay, R., Gagnon, R., Morin, H., 1992. A new automatic and interactive tree ring measurement system based on a line scan camera. *For. Chronicle* 68, 138–141.
- Hacke, U., Sperry, J., Pockman, W., Davis, S., McCulloh, K., 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126, 457–461.
- IPCC, 2007. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Summary for Policymakers. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Available in: <http://www.ipcc.ch/SPM2feb07.pdf>.
- Johnson, G.R., Gartner, B., 2006. Genetic variation in basic density and modulus of elasticity of coastal Douglas-fir. *Tree Genet. Genomes* 3, 25–33.
- King, J.N., Yeh, F., Heaman, J., Dancik, B., 1988. Selection of wood density and diameter in controlled crosses of coastal Douglas-fir. *Silvae Genet.* 37, 152–157.
- Levinson, D.H., Waple, A.M., 2004. State of the climate in 2003. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* 85, 72.
- Loo-Dinkins, J.A., Gonzalez, J.S., 1991. Genetic control of wood density profile in young Douglas-fir. *Can. J. For. Res.* 21, 935–939.
- Mainly, B., 1997. *Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology*, second ed. Chapman & Hall/CRC.
- Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Dalla-Salda, G., Pastorino, M., Gautry, J.Y., Gallo, L., Rozenberg, P., 2008. Genetic control of the tree-ring response of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) to the 2003 drought and heat-wave in France. *Ann. For. Sci.* 65. Available in: www.afs-journal.org.
- Meehl, G., Tebaldi, C., 2004. More intensive, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st century. *Science* 305, 994.
- Mueller, R., Scudder, C., Porter, M., Talbor-Trotter III, R., Gehring, C., Whitham, T., 2005. Differential tree mortality in response to severe drought: evidence for long-term vegetation shifts. *J. Ecol.* 93, 1085–1093.
- Pittermann, J., Sperry, J.S., Wheeler, J.K., Hacke, U.G., Sikkema, E.H., 2006. Mechanical reinforcement of tracheids compromises the hydraulic efficiency of conifer xylem. *Plant Cell Environ.* 29, 1618–1628.
- Poige, H., 1966. Etablissement des courbes de variations de la densité du bois par exploration densitométrique de radiographies d'échantillons prélevés à la tarière sur des arbres vivants. Application dans les domaines technologiques et physiologiques. Ph.D. Thesis. Université de Nancy, Nancy, 215 pp.
- Rathgeber, C., Decoux, V., Leban, J.M., 2006. Linking intra-tree-ring wood density variations and tracheid anatomical characteristics in Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). *Ann. For. Sci.* 63, 699–706.
- R Development Core Team, 2008. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. R Development Core Team, Vienna, Austria. Available in: <http://www.R-project.org>.
- Rennenberg, H., Loreto, F., Polle, A., Brilli, F., Fares, S., Beniwal, R.S., Gessler, A., 2006. Physiological responses of forest trees to Heat and Drought. *Plant Biol.* 8, 556–571.
- Rozenberg, P., Franc, A., Commère, P.H., Schermann, N., Bastien, J.C., 1997. Height growth, wood density and dry fibre weight of four 33 year-old Douglas-fir provenances. In: *Proceedings of the CTIA/IUFRO International Wood Quality Workshop. Timber Management Toward Wood Quality and End-Product Value*, Vancouver, Canada, August 18–22, pp. 83–90.
- Rozenberg, P., Franc, A., Bastien, C., 2001. Improving models of wood density by including genetic effects: a case study in Douglas-fir. *Ann. For. Sci.* 58, 385–394.
- Rozenberg, P., Van Loo, J., Hannrup, B., Grabner, M., 2002. Clonal variation of wood density record of cambium reaction to water deficit in *Picea abies* (L.) Karst. *Ann. For. Sci.* 59, 533–540.
- Rozenberg, P., Pâques, L., 2004. Evidence of the effect of the climate of year 2003 on Douglas-fir and larch wood formation in France. In: *Abstract Proceedings of the Conference Impacts of the Drought and Heat in 2003 on Forests*. Freiburg, Germany, November 17–19, p. 38.
- Rozenberg, P., Schüte, G., Ivkovich, M., Bastien, C., Bastien, J.C., 2004. Clonal variation of indirect cambium reaction to within-growing season temperature changes in Douglas-fir. *Forestry* 77, 257–268.
- Salinger, S., 2005. Increasing climate variability and change: reducing the vulnerability. *Climatic Change* 70, 1–3.
- Sanchez-Vargas, N., Sanchez, L., Rozenberg, P., 2007. Plastic and adaptive response to weather events: a pilot study in a maritime pine tree ring. *Can. J. For. Res.* 37, 2090–2095.
- Saxe, H., Cannel, M.G.R., Johnsen, Ø., Ryan, M.G., Vourlitis, G., 2001. Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytol.* 149, 369–400.
- Schär, C., Vidale, P.L., Lüthi, D., Frei, C., Häberli, C., Mark, A., Liniger, M.A., Appenzeller, C., 2004. The role of increasing temperature variability in European summer heatwaves. *Nature* 427, 332–336.
- Scheider, S.M., Lyman, R.F., 1989. The genetics of phenotypic plasticity. I. Heritability. *J. Evol. Biol.* 2, 95–107.
- Schiller, G., Cohen, Y., 1995. Water regime of a pine forest under a Mediterranean climate. *Agric. For. Meteorol.* 74, 181–193.
- Sperry, J.S., Hacke, U.G., Pittermann, J., 2006. Size and function in conifer tracheids and angiosperms vessels. *Am. J. Bot.* 93, 1490–1500.

- St. Clair, J.B., 1994. Genetic variation in tree structure and its relation to size in Douglas-fir. I. Biomass partitioning, foliage efficiency, stem form and wood density. *Can. J. For. Res.* 24, 1226–1235.
- St. Clair, J.B., Howe, G., 2007. Genetic maladaptation of coastal Douglas-fir seedlings to future climates. *Global Change Biol.* 13, 1441–1454.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2006. *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc.
- Thivolle-Cazat, A., 2004. Le Douglas en France: une ressource résineuse en pleine expansion. Available in: <http://www.afocel.fr/Foret/Ressources/Douglas/4%20pagesF.Douglas.pdf>.
- Tyree, M., Sperry, J., 1989. Characterization and propagation of acoustic-emission signal in woody-plants-towards an improved acoustic-emission counter. *Plant Cell Environ.* 12, 371–382.
- Tyree, M.T., Zimmerman, M.H., 2002. *Xylem Structure and the Ascent of Sap*, Second edition. Springer-Verlag/GmbH & Co. K, Berlin and Heidelberg.
- Vargas-Hernandez, J., Adams, W.T., Krahmer, R.L., 1994. Family variation in age trends of wood density traits in young coastal Douglas-fir. *Wood Fiber Sci.* 26, 229–236.
- Waring, R., Running, S., 1978. Sapwood water storage: its contribution to transpiration and effect upon water conductance through the stems of old-growth Douglas-fir. *Plant Cell Environ.* 1, 131–140.
- Zahner, R., 1968. Water deficits and growth of trees. In: Kozlowski, T.T. (Ed.), *Water Deficits and Plant Growth*. Academic Press, New York, pp. 191–254.
- Zamudio, F., Rozenberg, P., Baettig, R., Vergara, A., Yañez, M., Gantz, C., 2005. Genetic variation of wood density components in a radiata pine progeny test located in the south of Chile. *Ann. For. Sci.* 62, 105–114.
- Zobel, B.J., Jett, J.B., 1995. *Genetics of Wood Production*. Springer-Verlag.
- Zobel, B., van Buijtenen, J., 1989. *Wood Variation its Causes and Control*. Springer-Verlag.

Chapitre 2

[Article 2]: Genetic control of the tree-ring response of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) to the 2003 drought and heat-wave in France.

Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Dalla-Salda, G., Pastorino, M., Gautry, J-Y., Gallo, L., Rozenberg, P. *Annals of Forest Science* (2008) 65:102. Available online at: www.afs-journal.org.

La réponse microdensitométrique du douglas à la canicule 2003 est-elle héritable ?

Le profil de microdensité du bois décrit les variations de la densité du bois le long du rayon d'un tronc, de la moelle jusqu'à l'écorce. Ces profils de densité nous ont permis d'étudier les effets de la vague de chaleur et de sécheresse de 2003 sur le processus de formation du bois chez une espèce très productive, le douglas, très exigeante en eau pendant la saison de végétation.

Des variables simples de densité comme la largeur du cerne, la densité moyenne, minimale et maximale du cerne 2003 ont été étudiées et comparées avec les mêmes variables des cernes immédiatement précédents et suivants, c'est à-dire 2002 et 2004. Les conséquences de la vague de chaleur et de sécheresse ont été étudiées à partir des variables de densité et à partir de nouvelles variables appelées *différences* définies et estimées pour apprécier l'impact immédiat de la canicule (différence 2003 - 2002) et sa récupération ou son possible impact différé (différence 2004 - 2003). Les différentes variables ont été définies pour toutes les variables simples de densité préalablement définies. Trois dispositifs clonaux plantés dans trois régions différentes de la France où le douglas a été fortement introduit ont été étudiés. 22 à 30 clones dans chaque site ont permis d'estimer l'héritabilité au sens large des variables de densité et des variables de différences. L'existence de clones communs entre sites a permis d'étudier l'effet de la variation géographique sur les variables de microdensité et les variables *différences*. La totalité des clones de chaque site a été utilisée pour estimer la variation temporelle et l'héritabilité des variables de densité et des différences dans chaque site et pour chaque année (cerne).

L'indice climatique de De Martonne a permis de comparer la vague de chaleur et sécheresse de 2003 avec le climat de la période 1994 – 2004. Nous montrons que chacun des sites a été affecté de manière différente. L'impact de la canicule a été extrême dans le site situé plus au nord, Chassenoix. L'indice climatique de l'année 2003 pour ce site présente une très faible probabilité d'être observé quand nous le comparons avec les conditions climatiques de la période 1994-2004. Nos résultats montrent qu'à Chassenoix la vague de chaleur et de sécheresse de 2003 a réduit de façon significative la largeur du cerne et le processus de formation du bois chez le douglas : le cerne 2003 semble incomplet, sans bois final ou avec un bois final incomplet. Les conditions climatiques extrêmes vers la fin de la saison de végétation suggèrent que le douglas a arrêté sa croissance radiale précocement. Le bois du cerne 2003 dans ce site a une densité minimale plus élevée, c'est-à-dire que les plus grandes trachéides conductrices qu'il contient ont des lumens plus étroits et/ou des parois plus épaisses que dans les autres sites et cernes. Ces caractéristiques anatomiques pourraient aider l'arbre à retarder une cavitation généralisée du xylème en cas de bilan hydrique négatif résultant des hautes demandes atmosphériques et des très basses disponibilités en eau dans le sol. Chez le douglas, la sève brute est conduite principalement dans le bois initial des derniers cernes. L'augmentation de la densité minimale pourrait donc être en rapport avec l'aptitude relative à la survie. Dans le site situé plus au sud, bien que les conditions de l'année 2003 ne paraissent pas aussi extrêmes que dans le site le plus au nord, les effets de la canicule semblent avoir des répercussions sur la croissance et la formation du bois dans le cerne suivant, soit le cerne 2004.

En partant de la lecture de l'enregistrement bois dans le site fortement affecté par les conditions climatiques de l'année 2003, le douglas semble extrêmement plastique aux variations du climat, pouvant se remettre en condition de croissance normale dès l'année suivant un très fort stress hydrique. La réduction de la largeur de cerne et de la densité du bois, expliquée à partir des variables microdensitométriques, est héritable ($H^2 = 0,17 - 0,48$). Ceci suggère que chez le douglas il existe un potentiel évolutif pour la réponse aux événements climatiques extrêmes qui pourrait être mis en œuvre lors des passages aux générations suivantes.

Genetic control of the tree-ring response of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) to the 2003 drought and heat-wave in France

Alejandro G. MARTINEZ MEIER^{1,2*}, Leopoldo SANCHEZ², Guillermina DALLA SALDA^{2,3},
Mario J.M. PASTORINO^{1,4}, Jean-Yves GAUTRY⁵, Leonardo A. GALLO¹, Philippe ROZENBERG²

¹ INTA Bariloche, Unidad de Genética Forestal, C.C. 277, 8400, Bariloche, Argentina

² INRA Orléans, Unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestières, 2163 Avenue de la Pomme de Pin,
BP 20619 Ardon, 45166 Olivet Cedex, France

³ INTA Bariloche, Grupo de Ecología Forestal, C.C. 277, 8400, Bariloche, Argentina

⁴ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), C.C. 277, 8400, Bariloche, Argentina

⁵ AFOCEL Centre Ouest, Les Vaseix, 87430 Verneuil-sur-Vienne, France

(Received 4 January 2007; version revised 4 April 2007; accepted 26 April 2007)

Abstract – The genetic control of tree ring growth in Douglas-fir in response to the drought and heat-wave that occurred in 2003 in Europe was studied with microdensity profiles in three clonal experiments located in three different French regions. The drought and heat-wave significantly affected Douglas-fir wood formation. The Chassennoix site (Northeast of Massif-Central) was more severely affected than the other two: the 2003 year-ring was narrower and less dense than in the other sites and than the previous (2002) and following (2004) year-rings in the same site: ring growth stopped earlier and latewood did not develop completely. The year-rings 2004 and 2002 were very similar in this site. There was a significant genetic control for all ring parameters in the three sites and during the three years. The heritability was highly variable between years and among sites, without any clear pattern in this variability, except in Chassennoix where it was slightly lower in the 2003 year-ring. Variables measuring the response of trees to the 2003 event, i.e., the difference in ring width between 2002 and 2003, or between 2003 and 2004, showed a very variable degree of genetic control, from very low to relatively high. Douglas-fir seemed plastic enough to acclimate to the drought and heat-wave and then to recover during 2004. Furthermore the level of heritability estimated demonstrates that Douglas-fir has an adaptive potential that could be useful for multi-generation long-term response.

heat-wave / Douglas-fir / microdensity / adaptation

Résumé – Contrôle génétique de la réponse microdensitométrique du Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) à la sécheresse et canicule de 2003 en France. La réponse du douglas à la canicule de 2003 en France a été étudiée à l'aide de profils microdensitométriques obtenus sur des arbres de 3 tests clonaux situés dans 3 régions différentes. La canicule a significativement affecté la formation du bois du douglas. Les arbres du site de Chassennoix, situé dans le Morvan, ont réagi plus fortement que ceux des 2 autres : le cerne de l'année de la canicule est plus étroit et moins dense que le même cerne dans les 2 autres sites et plus étroit et moins dense que les cerne immédiatement antérieur (2002) et postérieur (2004) dans le même site ; la formation du bois s'est arrêtée plus tôt et le bois final ne s'est pas complètement développé. À Chassennoix, le cerne de l'année 2004 ressemble plus au cerne 2002 qu'au cerne 2003, ce qui traduit une récupération. Nous mettons en évidence un contrôle génétique significatif pour toutes les variables intra-cernes dans les 3 sites, pour les 3 années 2002, 2003 et 2004. Les héritabilités sont très variables entre caractères, sites et années, sans structure particulière, sauf à Chassennoix où ces héritabilités sont légèrement plus faibles durant l'année de la canicule. Des variables décrivant la réponse des arbres entre 2002 et 2003 puis 2003 et 2004 sont très irrégulièrement contrôlées génétiquement, avec des héritabilités allant de 0 à près de 0,5. Le douglas semble avoir été suffisamment plastique pour s'acclimater à la sécheresse et canicule puis pour récupérer en 2004 une croissance proche de celle de 2002. De plus, son potentiel génétique démontré par le niveau d'héritabilité estimé lui donne également une capacité adaptative multi-génération à plus long terme.

canicule / Douglas / microdensité / adaptation

1. INTRODUCTION

Summer 2003 was characterized by extremely high temperatures over several European countries, including France, breaking in some cases all-time maximum records [18, 19]. This heat wave had also an extraordinary duration [20]. According to Chuine et al. [5], it was the most severe heat wave in France since at least 1370. This phenomenon was accompanied by low precipitation, which failed to compensate for the elevated evapotranspiration, resulting in a large water balance

deficit. Many trees were affected by this phenomenon, with reactions ranging from partial foliage necrosis to tree death [1, 34].

With the forecasted global climate change, such extreme climate events are likely to become more frequent [19, 32]. They may become major limiting factors for tree growth in the future.

The consequences of the global climate change on our forest are being widely studied. For example, the temperature increase associated with the global climate change has a

* Corresponding author: alejandro.martinez@orleans.inra.fr

Table I. Main features of the three Douglas-fir trial sites used in this study.

Sites	Latitude	Longitude	Elevation (m)	¹ Max–Min temperature (°C)	² Precipitation (mm)	Number of clones
Lartimache	45.65	0.84	415	16.8–6.3	1206	30
Chassenoix	47.34	4.19	470	15.3–5.0	1212	23
Sorèze	43.26	2.08	710	18.6–8.8	929	22

¹ Mean daily maximum and minimum temperature for the period 1994–2004.

² Mean annual precipitation for the period 1994–2004.

demonstrated effect on tree phenology, especially at the beginning of the growing season [4, 5, 25, 37]. Little is known however about the effect of the climate change on other traits related with wood formation. Cambial activity is affected by variations of water balance during the growing season, which results in variation of the morphology of the produced xylem cells [11, 16, 38]. Rozenberg et al. [27] illustrated this with Norway spruce samples, where early drought during the 1993 growing season left a distinctive imprint in the wood record; moreover, the among-tree difference in reaction intensity was under strong genetic control. In general, the impact of climate fluctuations may be minimized due to the ability of a given genotype to adjust its phenotype: i.e., phenotypic plasticity [24]. Changes in wood formation during cambial activity can be interpreted as a plastic response to climate variation.

Pseudotsuga menziesii var. *menziesii* (Douglas-fir) is one of the tree species that showed partial or complete foliage necrosis during and after the heat-wave. It is a highly productive forest species currently abundantly planted in France, typically in sites with at least 400 mm between May–September. Douglas-fir is particularly sensitive to a reduction of water availability [8, 29].

Preliminary results obtained from samples collected on a small number of Douglas-fir trees immediately after the 2003 drought and heat-wave showed a conspicuous effect on the 2003 year-ring [28]. Indirect X-ray microdensitometry revealed large differences in the 2003 ring as compared to the rings 1999 to 2002: the 2003 ring was narrower with a thinner and less dense latewood.

The objective of this study was to improve our understanding of Douglas-fir responses to extreme drought and heat, using indirect X-ray microdensity profiles in the wood as a record of cambial activity subjected to environmental variations [16, 38].

For this, we analysed wood microdensity records on samples from a Douglas-fir clonal experiment with replicates in three distinct sites. We compared the rings formed under extreme weather conditions in the year 2003 with the rings immediately preceding and following, arbitrarily chosen as references. The primary benefit of selecting 2002 and 2004 as reference years is minimizing the cambial age effect when comparing rings.

The replication of several genotypes over the three sites allowed us to separate the genetic effect from the site effect in the estimation of the response to the drought and heat wave and to quantify the degree of genetic control.

The reaction was measured not only by observing the characteristics of the single rings, but also using the difference be-

tween ring variables of successive rings 2002 and 2003, and of successive rings 2003 and 2004. *Difference 2002–2003* is a quantification of immediate tree reaction to drought and heat wave, while *difference 2003–2004* is assumed to be a blend of recovery and delayed reaction. The *difference 2002–2004* was also analysed but finally discarded since no consistent trend was detected in the results.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Site and climate description

Wood microdensity data were obtained from three clonal tests of Douglas-fir planted in France by AFOCEL (Association Forêt Cellulose, www.afocel.fr). Table I summarizes some climate parameters for the three sites located at Lartimache (West of Massif-Central, Limousin), Chassenoix (Northeast of Massif-Central, Morvan) and Sorèze (South of Massif-Central, Midi-Pyrénées). Chassenoix is the site with the youngest trees and with the lowest plantation density. This plantation was installed during March 1988 at 4 × 3 m spacing, while Sorèze and Lartimache were planted during March 1986 and December 1984 respectively, at 3 × 3 m.

Climate data was provided by Météo-France, from the closest meteorological stations to the experimental sites. Of the three sites, Sorèze showed the lowest mean annual precipitation for the period 1994–2004 and the highest maximum and minimum mean annual temperatures. Chassenoix and Lartimache received similar precipitations. But Lartimache displayed higher annual mean temperature than Chassenoix. We computed an aridity index (Eq. (1)) based on the index of De Martonne [7]:

$$AI_{ij} = \frac{T \max}{P} \quad (1)$$

where: AI_{ij} = climate index of *site_i* during *year_j*, $T \max$ = sum of maximum daily temperatures, and P = annual precipitation. Taking into account the range of Aridity Indices (AI) of the period 1994–2004, the probability associated with each year's AI was computed from Normal statistics as a measure of the likelihood of each year's aridity.

2.2. Wood sampling

Three to five trees were sampled from each clone in each site. Samples consisted of 5 mm increment cores taken at breast height. The number of clones per site was between 22 and 30 (Tab. I), with nine clones common to the three sites. Increment cores were dried to moisture equilibrium and subsequently analysed by indirect X-ray densitometry [21]. The resulting X-ray films were scanned at a

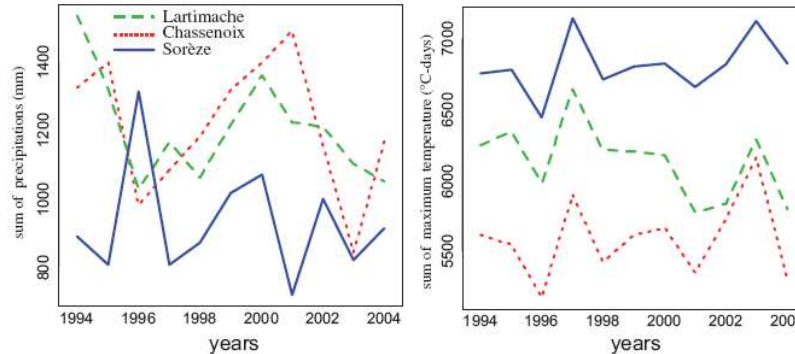


Figure 1. Time course of annual rainfall (mm) and sum of daily maximal temperatures (°C-days) during the 1994–2004 period in Lartimache, Chassenoix and Sorèze.

1000 dpi resolution with 8 bits per pixel. The digital images were processed with the WinDENDRO software [13], obtaining a spatial resolution of 25 μm. The last step of the data processing used a computer routine written in R language [22] to compute following variables for each year-ring:

- ring width (RW),
- mean ring density (MRD),
- minimum ring density (MID),
- maximum ring density (MAD).

2.3. Data analysis

The ring formed during 2003 was compared to the neighbouring rings formed during 2002 and 2004, in the three clonal sites. We assumed that the between-ring variation for the three year-rings is related to environment rather than to changes in cambial age, as defined by Zobel and van Buijtenen [39].

Rather than using a unique and complete year-site-clone ANOVA model, with only 9 clones common to the 3 sites and many complex-to-interpret interactions, we decided to split the analysis into two steps:

In a first step, inter-annual variations were analysed independently in the 3 sites using all available clones in each site (thus increasing the statistical power of the analysis), by means of the following ANOVA model:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \tag{2}$$

where y_{ijk} = k th observation during i th year and the j th level of factor clone, μ = overall mean effect, τ_i = fixed effect of the i th level of factor site, β_j = fixed effect of the all j th level of factor clone in each site, $(\tau\beta)_{ij}$ = interaction between the i th level of factor year and the j th level of factor clone, and ε_{ijk} = random error.

In a second step, inter-site analysis was conducted independently for each year, using the 9 clones common to the three sites:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \tag{3}$$

where y_{ijk} = k th observation of the microdensity parameters taken under the i th level of factor site and the j th level of factor clone, μ = overall mean effect, τ_i = fixed effect of the i th level of factor site, β_j = fixed effect of the j th level of factor clone (nine clones in common to the three sites), $(\tau\beta)_{ij}$ = effect of interaction between the i th level of factor site and the j th level of factor clone, and ε_{ijk} = random error.

The between-site cambial age effect related with the differences in plantation dates is taken into account in this inter-site ANOVA model, as well as all the environmental effects associated with the sites.

The response of each ring property to the extreme climate of year 2003 was calculated as the difference between the 2003 and the 2002 values (*difference 2002–2003*). The recovery of ring properties during 2004 was computed similarly as the *difference 2003–2004*. Thus eight *differences* variables were associated to the four ring variables: RW, MRD, MID and MAD. The following model was used to assess the degree of genetic control of the *differences* traits:

$$\Delta y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \tag{4}$$

where Δy_{ij} = i th difference between the value in year $_{n+1}$ and the value in year $_n$, μ = overall mean, τ_i = random effect of the i th clone and ε_{ij} = random error.

We used the same model to assess the degree of genetic control for ring variables in each site and year. The models were treated with the AOV function of R statistical software [22].

We calculated genetic determination coefficient of broad sense heritability as [10]:

$$H^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2}; \tag{5}$$

where: σ_g^2 = genetic component of variance, and σ_e^2 = error component of variance. The corresponding standard error of the heritability was estimated as [10]:

$$s.e.(H^2) = \sqrt{\frac{(2 \times 1 + har - 1) \times H^2 \times (1 - H^2)^2}{(har \times (har - 1) \times (n - 1))}}; \tag{6}$$

where: *har* = harmonic mean of individuals in each clones, and *n* = number of clones.

3. RESULTS

3.1. Climate data

The annual cumulated daily maximum temperature during year 2003 was 567 °C-days, 151 °C-days and 314 °C-days above the mean value over the 1994–2004 period in Chassenoix, Lartimache and Sorèze, respectively, while cumulated

Table II. Annual Aridity indexes. Means and standard error for the period 1994–2004, and probability (in percentage) of occurrence of a larger Aridity index.

	Aridity index				s.e.	Probability × 100		
	AI ₂₀₀₂	AI ₂₀₀₃	AI ₂₀₀₄	AI _{1994–2004}		AI _t > AI ₂₀₀₂	AI _t > AI ₂₀₀₃	AI _t > AI ₂₀₀₄
Lartimache	4.82	5.72	5.52	5.15	0.61	70.7	17.6	27.1
Chassenoix	4.97	7.32	4.55	4.75	1.02	41.78	0.6	57.9
Sorèze	6.83	8.69	7.48	7.53	1.28	70.8	18.1	51.6

rainfall was 371, 106 and 110 mm below the 1994–2004 average (Fig. 1). Year 2003 was clearly exceptional in Chassenoix with respect to the low probability of reaching higher values displayed in Table II.

3.2. Comparisons between years

The results of ANOVA for the comparison by pairs of years are presented in Table III: year 2003 differed significantly from year 2002 for all ring parameters in the three sites, and from year 2004 for all variables in Chassenoix, for 3 variables in Sorèze and for 3 variables in Lartimache. The year effect was significant when we compare 2002 and 2004 for all ring variables except for RW in Lartimache.

The most severe impact of year 2003 was recorded in Chassenoix, particularly for RW and MID (Tab. III). For 2002 and 2004, the year effect was much stronger in Sorèze for all ring variables except for RW.

Figure 2 shows the change of ring characteristics from 2002 to 2004, in the 3 sites. The site Chassenoix had the most distinctive behaviour of the three sites for the 4 variables. In Chassenoix, RW diminished between 2002 and 2003, but increased steeply in 2004. A similar but attenuated trend was visible in Lartimache. In Sorèze, RW decreased continuously between 2002 and 2004. For the variables MRD and MAD, Chassenoix showed the same trend in 2003 as for RW. In Lartimache and Sorèze, however, the between-year variation for these variables was smaller, and 2003 was generally not the year with the lowest value. MID was the only variable with a maximum value in 2003 in Chassenoix.

3.3. Site, clone and site-clone interaction effects on ring variables

The site effect was strongly significant for all ring variables except for MID during 2004 (Tab. IV). The clone effect was always strongly significant for all years and ring variables. There was no noticeable trend in the variation of the clone effect between years. The interaction effect was significant except for MID (in 2002 and 2003) and MAD (in 2004). When site×clone effects were significant, the associated probabilities were always larger than for the main effects (data not shown).

3.4. Genetic control of ring variables

Table V presents the broad-sense heritability estimates in the 3 sites and during the 3 years for the 4 ring variables.

Table III. Results of the fixe-effects analysis of variance (F value and code for associated probability) for comparison by pairs of years, using all clones in each site.

	RW	MRD	MID	MAD
Between 2002 and 2003				
Lartimache				
Year	23.88***	54.09***	44.19***	68.57***
Clone	7.53***	9.25***	6.36***	10.89***
Year×clone	0.18 ns	1.18 ns	0.61 ns	1.65*
Chassenoix				
Year	119.76***	106.62***	77.99***	243.47***
Clone	5.88***	9.77***	5.22***	4.86***
Year×clone	0.58 ns	1.65*	0.92 ns	0.88 ns
Sorèze				
Year	12.77***	122.32***	30.23***	136.02***
Clone	5.59***	11.26***	5.20***	4.92***
Year×clone	0.71 ns	2.57***	0.38 ns	2.76***
Between 2003 and 2004				
Lartimache				
Year	8.90***	25.18***	0.07 ns	23.30***
Clone	6.43***	9.36***	5.89***	5.23***
Year×clone	0.24 ns	3.01***	0.90 ns	1.59*
Chassenoix				
Year	392.70***	599.99***	36.01***	72.21***
Clone	6.14***	11.05***	3.96***	4.01***
Year×clone	1.79*	3.22***	0.96 ns	1.80*
Sorèze				
Year	16.15***	420.03***	3.35 ns	93.45***
Clone	5.86***	16.04***	6.43***	3.24***
Year×clone	1.19 ns	3.43***	0.58 ns	0.91 ns
Between 2002 and 2004				
Lartimache				
Year	2.14 ns	154.90***	35.17***	127.25***
Clone	6.33***	8.35***	5.14***	6.24***
Year×clone	0.19 ns	1.54*	0.88 ns	0.85 ns
Chassenoix				
Year	111.58***	149.75***	7.53**	55.14***
Clone	5.69***	11.01***	4.09***	6.27***
Year×clone	2.14**	5.29***	1.73*	1.85*
Sorèze				
Year	61.14***	1180.98***	51.58***	439.84***
Clone	3.95***	13.60***	6.87***	5.59***
Year×clone	1.02 ns	4.28***	0.98 ns	1.28 ns

Codes for associated probability: between 0 and 0.001 = ***, between 0.001 and 0.01 = **, between 0.01 and 0.05 = *, and > 0.5 = ns.

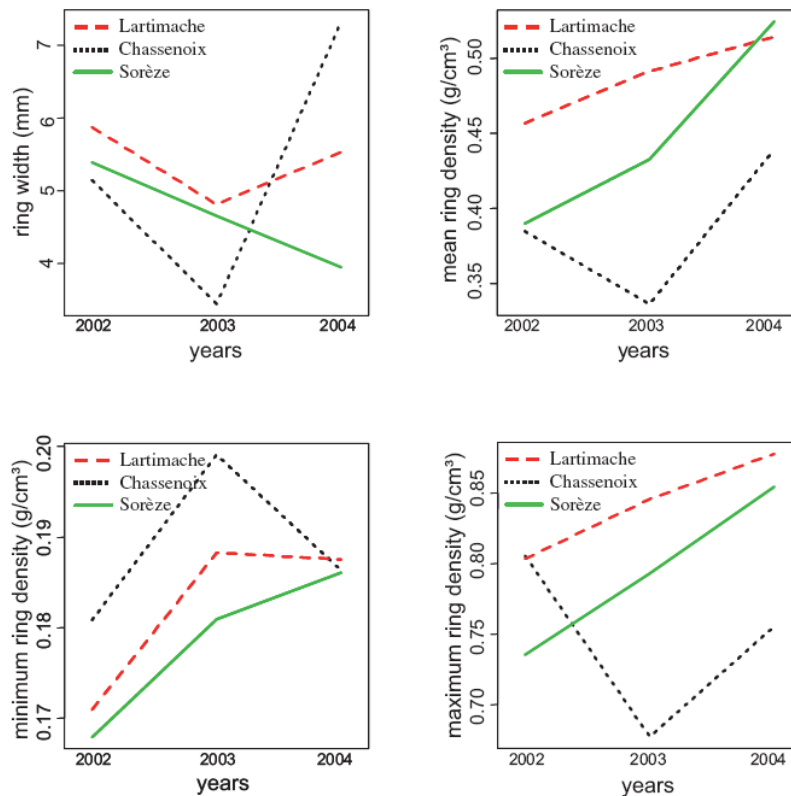


Figure 2. Time course during 2002-2004 of tree ring properties: RW (ring width), MRD (mean ring density), MID (minimum ring density) and MAD (maximum ring density), in young Douglas-firs planted at three sites.

Table IV. Results of fixed effect analysis of variance (F value and code for associated probability) for site (degree of freedom = 2), clone (degree of freedom = 8) and site×clone interaction (degree of freedom = 16), using the 9 clones common to the 3 sites, for the 4 ring variables.

	RW	MRD	MID	MAD
2002				
Site	5.25***	44.29***	6.54***	44.36***
Clone	8.94***	6.98***	5.82***	7.68***
Site×clone	2.27***	2.87***	1.56 ns	3.11***
2003				
Site	9.94***	183.61***	7.22***	90.06***
Clone	7.84***	10.12***	4.45***	4.09***
Site×clone	1.91*	1.90*	1.66 ns	3.46***
2004				
Site	37.17***	136.69***	2.94 ns	49.03***
Clone	6.56***	8.03***	3.54***	3.67***
Site×clone	2.43***	2.46***	2.21**	1.51 ns

Codes for associated probability: between 0 and 0.001 = ***, between 0.001 and 0.01 = **, between 0.01 and 0.05 = *, and >0.5 = ns.

The variable with the strongest genetic control was MRD, followed by MID, MAD and RW. However, there was more variation between years and between sites than between variables.

No particular trend can be identified for the between-year or between-site variation.

3.5. Response to 2003 drought and heat-wave

Figure 3 shows the mean values and standard errors of the difference for all clones in each site. This suggested that the response to the 2003 drought and heat-wave in Chassenoix was different of that in Lartimache and Sorèze. In Chassenoix, all differences 2002–2003 were negative, except difference 2002–2003 for MID, and were opposite to the differences 2003–2004.

Table VI presents the results about the genetic control of the difference traits. There was a significant genetic control for most difference traits in Chassenoix and Sorèze, but not for difference 2002–2003 for RW and MID in Lartimache and MAD in Chassenoix, nor for difference 2003–2004 for RW in Lartimache, MID in Chassenoix and MAD in Sorèze. Corresponding values for heritability ranged from non-significantly different from zero (for the same variables) to moderate to quite high values (reaching a maximum of 0.48 in Sorèze for difference 2002–2003 for RW and MAD).

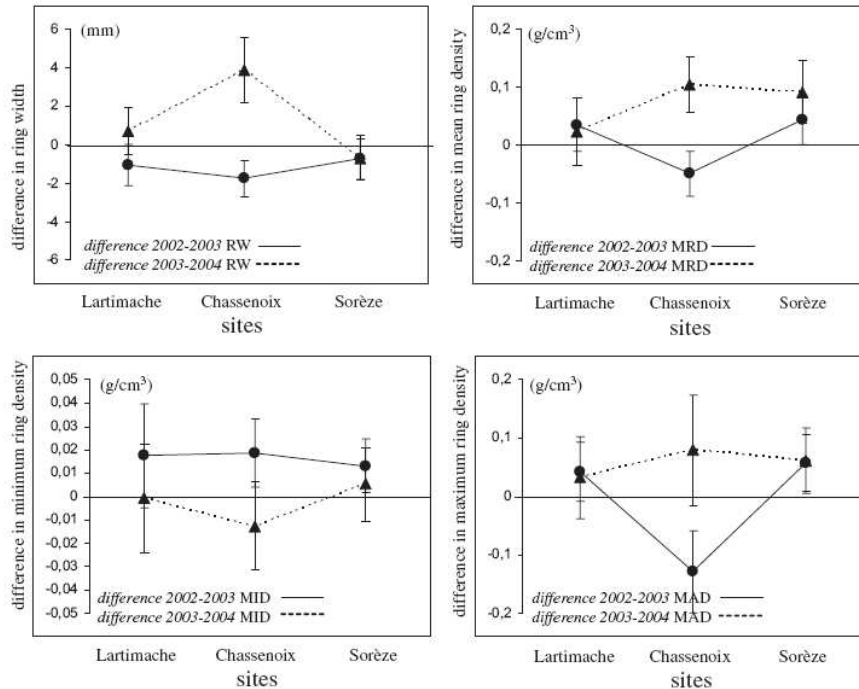


Figure 3. Inter-annual differences in ring properties of young Douglas-firs in the different sites *difference* RW (ring width), *difference* MRD (mean ring density), *difference* MID (minimum ring density) and *difference* MAD (maximum ring density).

Table V. Coefficient of genetic determination (H^2 broad sense heritability) and associated errors (s.e. H^2) for the 4 ring variables in the 3 sites during the 3 years.

	RW		MRD		MID		MAD	
	H^2	s.e. H^2	H^2	s.e. H^2	H^2	s.e. H^2	H^2	s.e. H^2
Lartimache								
2002	0.37	0.13	0.40	0.13	0.34	0.13	0.55	0.12
2003	0.35	0.13	0.54	0.12	0.54	0.12	0.55	0.12
2004	0.29	0.13	0.52	0.13	0.28	0.13	0.22	0.13
Chassenoix								
2002	0.33	0.15	0.55	0.14	0.36	0.15	0.44	0.15
2003	0.32	0.15	0.43	0.15	0.26	0.15	0.23	0.15
2004	0.41	0.15	0.67	0.12	0.30	0.15	0.38	0.15
Sorèze								
2002	0.26	0.15	0.43	0.16	0.34	0.16	0.59	0.14
2003	0.39	0.16	0.61	0.13	0.25	0.15	0.18	0.14
2004	0.26	0.15	0.69	0.12	0.55	0.14	0.19	0.15

4. DISCUSSION AND CONCLUSION

During summer 2003 temperature was exceptionally high and precipitations were low, but the magnitude of the drought and heat-wave was not uniform over the whole French territory [23]. Of the three sites, Chassenoix was the most severely affected, with the highest maximum temperature and lowest precipitations. In Chassenoix, the 2003 Aridity Index had the low-

est probability of occurrence, considering a period of 11 years. This confirms that 2003 climatic conditions were most atypical for this site.

Douglas-fir response to drought and heat

In Chassenoix, the ring 2003 was narrower and less dense than the others. Earlywood showed a higher minimum density during 2003, while latewood had lower maximum density than the other neighbouring rings, which determined together a decrease in within-ring density variation for 2003.

These results support the idea that during 2003, in Chassenoix, ring formation stopped earlier than during 2002 and 2004, resulting in a ring with incomplete latewood. Similar features were observed by Rozenberg and Pâques [28] in a Douglas-fir stand located south of Orléans, in France. In Lartimache, the 2003-ring was different from the previous and following ones for nearly all properties, but ring width and ring density variables were only slightly modified (respectively decreased and increased, Fig. 2), with no specific tendency. In Sorèze, the trends (shown in Fig. 2) were different from Chassenoix and Lartimache and moderate, despite the fact that the climatic conditions during 2004 were much closer to mean values than during 2003. This suggests that in Sorèze the abnormal climatic conditions during 2003 may have impacted wood formation during the year 2004.

One of the consequences of the 2003 drought and heat-wave was a dramatic reduction of water availability in the

Table VI. Coefficient of genetic determination (H^2 broad sense heritability) and associated error (s.e. H^2) for the *differences* (2002–2003 and 2003–2004) describing the impact of the 2003 drought and heat wave. All clones were used in Lartimache, Chassenoix and Sorèze.

	Difference 2002–2003		Difference 2003–2004	
	H^2	s.e. H^2	H^2	s.e. H^2
Lartimache				
<i>difference</i> RW	0.01	0.09	0.06	0.10
<i>difference</i> MRD	0.19	0.13	0.41	0.13
<i>difference</i> MID	0.05	0.10	0.29	0.13
<i>difference</i> MAD	0.35	0.13	0.27	0.13
Chassenoix				
<i>difference</i> RW	0.34	0.15	0.38	0.15
<i>difference</i> MRD	0.34	0.15	0.42	0.15
<i>difference</i> MID	0.28	0.15	0.08	0.12
<i>difference</i> MAD	0.06	0.12	0.22	0.14
Sorèze				
<i>difference</i> RW	0.48	0.15	0.47	0.15
<i>difference</i> MRD	0.32	0.16	0.40	0.16
<i>difference</i> MID	0.17	0.14	0.24	0.16
<i>difference</i> MAD	0.48	0.15	0.05	0.12

soil. According to Bréda et al. [2, 3], a first reaction to decreased soil water availability, is the reduction of transpiration by stomatal closure. This is generally accompanied by a reduction of tree growth. When the length and the intensity of the drought increase, cavitation may occur in xylem vessels, followed by early mortality of roots and twigs and, finally, by tree death [3]. Thicker cell walls and smaller diameter lumens (higher density wood) increase resistance to drought-induced cavitation and thus help trees to maintain the integrity of their hydraulic system [9, 14, 33]. In Chassenoix, ring density was lower during 2003 because, as hypothesized above, ring formation stopped earlier in 2003 than in 2002 and 2004, without giving the trees the opportunity to form a high-density cavitation-resistant latewood. This is consistent with the fact that the heat-wave started at the beginning of August 2003, which is close to the end of the growing season (the date of cessation of cambial activity is variable among species and among years and is believed to occur generally in August–September under northern-hemisphere temperate climates [16]). We plan to develop an in-depth analysis of the within-year variation of climate conditions and ring structure to improve our understanding of the time course of the effects of the 2003 climate.

The among-site variation for the four ring variables was also significant in rings 2002 and 2004. This regional variation was larger for the years 2003 and 2004 than for the year 2002.

Our results demonstrate that there was a significant genetic control over all ring variables in the 3 sites and during the 3 years. Heritability estimates are consistent with results previously published by several authors for ring width and ring density in Douglas-fir [12, 15, 26, 35, 36]: the highest heritabil-

ity estimates are found for ring density, while the lowest are found for ring width.

Broad sense heritability varied among years and sites. It was not affected by the 2003 drought and heat-wave, except in Chassenoix. In this later site heritability was always slightly lower during 2003 than 2002 and 2004. Some authors [30, 31] suggested that the expression of genetic control in quantitative characters could be related with resources availability.

An important finding of our study is that almost all *difference traits* were under genetic control. The *difference traits* in this study are indexes of phenotypic plasticity which appeared as having heritability values close to those of ring variables. Assuming that a considerable part of this genotypic variation (note we estimated broad sense heritabilities) is additive, it would be eventually possible to select genotypes with a more favourable plastic reaction to similar climate disturbances, resulting in an improved fitness.

Anatomical changes in wood may confer altered hydraulic properties to the tree [6, 9, 33]. Our study demonstrates that some Douglas-fir genotypes had the potential to acclimate to new, unfavourable climate conditions. In a future work we will try to identify the new hydraulic properties that the plastic density response could confer to Douglas-fir submitted to climate change, and the possible consequences on this species fitness.

Our results show that Douglas-fir was plastic enough to acclimate to the 2003 drought and heat-wave and then to recuperate in 2004 a behaviour comparable to the one observed in ring 2002. But no information is available on possible delayed response, nor on the effect of recurrent, cumulated climate hazards as suggested for other conifer species [17].

Our results also show that Douglas-fir has an adaptive potential that could be useful for multi-generation long-term response. The results of this study are preliminary and have to be followed by new studies, because it is necessary to monitor the possible delayed response of Douglas-fir to the 2003 drought and heat-wave. Also, no information is available yet about the cumulated effect of new heat waves, like the one which was newly observed in July 2006 in France.

Acknowledgements: Research stay of Alejandro Martinez Meier at INRA Orléans was funded by Project Alfa II-266 GEMA (GENética de la MAdera), supported by European Commission. We would like to thank Frédéric Millier for the X-ray microdensity profiles, Céline de Vial for the WinDENDRO analysis and AFOCEL for providing the genetic tests and the plant material that was used in this study.

REFERENCES

- [1] Belrose V., Nageleisen L.M., Renaud J.P., Les conséquences de la canicule et de la sécheresse sur la santé des forêts : bilan à la fin de l'année 2003, Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et de la Ruralité, Département de la Santé des Forêts, http://www.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/canicule_secheresse.pdf, 2004, 16 p.
- [2] Bréda N., Granier A., Aussenac G., La sécheresse de 2003 dans le contexte climatique des 54 dernières années : analyse éco-physiologique et influences sur les arbres forestiers, Rev. For. Fr. 56 (2004) 109–131.

- [3] Bréda N., Huc R., Granier A., Dreyer E., Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences, review, *Ann. For. Sci.* 63 (2006) 625–644.
- [4] Chmielewski F., Muller A., Bruns E., Climate changes and trends in phenology of fruit trees and field crops in Germany 1961–2000, *Agric. For. Meteorol.* 121 (2004) 69–78.
- [5] Chuine I., Yiou P., Viovy N., Seguin B., Daux V., Le Roy Ladurie E., Historical phenology: Grape ripening as a past climate indicator, *Nature* 432 (2004) 289–290.
- [6] Cruziat P., Cochard H., Améglio T., The hydraulic architecture of trees: an introduction, *Ann. For. Sci.* 59 (2002) 723–752.
- [7] De Martonne E., L'indice d'aridité, *Bulletin de l'Association des géographes français* 9 (1926) 3–5.
- [8] Département de la Santé des Forêts, Sécheresse et canicule de l'été 2003. Quelle incidence visuelle sur les peuplements forestiers? Information Santé des Forêt, http://www.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/isfweb_long.pdf, février 2004, 8 p.
- [9] Domec J.C., Gartner B.L., How do water storage differ in coniferous earlywood and latewood? *J. Exp. Bot.* 53 (2002) 2369–2379.
- [10] Falconer D.S., Mackay T.F., Introduction to quantitative genetics, 4th ed., Longmans Green, Harlow, Essex, UK, 1996.
- [11] Glerum C., Drought ring formation in conifers, *For. Sci.* 16 (1970) 246–248.
- [12] Gonzalez J.S., Richards J., Early selection for wood density in young coastal Douglas-fir trees, *Can. J. For. Res.* 18 (1988) 1182–1185.
- [13] Guay R., Gagnon R., Morin H., A new automatic and interactive tree ring measurement system based on a line scan camera, *For. Chron.* 68 (1992) 138–141.
- [14] Hacke U., Sperry J., Pockman W., Davis S., McCulloh K., Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure, *Oecologia* 126 (2001) 457–461.
- [15] King J.N., Yeh F., Heaman J., Dancik B., Selection of wood density and diameter in controlled crosses of coastal Douglas-fir, *Silvae Genet.* 37 (1988) 152–157.
- [16] Larson P.R., The vascular cambium, development and structure, Springer Verlag, Heidelberg and Berlin, 1994, 725 p.
- [17] Lebourgeois F., Climatic signal in annual growth variation of silver fir (*Abies alba* Mill.) and spruce (*Picea abies* Karst.) from the French Permanent Plot Network (RENECOFOR), *Ann. For. Sci.* 64 (2007) 333–343.
- [18] Levinson D.H., Waple A.M., State of the Climate in 2003, *Bull. Am. Meteorol. Soc.* 85 (2003) 72 p.
- [19] Meehl G., Tebaldi C., More intensive, more frequent, and longer lasting heat-waves in the 21st Century, *Science* 305 (2004) 994–997.
- [20] Météo France, Éléments climatologiques sur l'année 2003, conséquences du réchauffement global pour le climat de la France, Note au Ministre de l'Équipement, des Transports, du Logement et de la Mer, 2003, 17 p.
- [21] Polge H., Etablissement des courbes de variations de la densité du bois par exploration densitométrique de radiographies d'échantillons prélevés à la tarière sur des arbres vivants. Application dans les domaines technologiques et physiologiques, Thèse de doctorat, Université de Nancy, 1966, 215 p.
- [22] R Development Core Team, *R: A language and environment for statistical computing*, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org>, 2006.
- [23] Rebetez M., Mayer H., Dupont O., Schindler D., Gartner K., Kropp J.P., Menzel A., Heat and drought 2003 in Europe: a climate synthesis, *Ann. For. Sci.* 63 (2006) 569–577.
- [24] Rehfeldt G., Wykoff W., Ying C., Physiologic plasticity, evolution and impacts of a changing climate on *Pinus contorta*, *Clim. Change* 50 (2001) 355–376.
- [25] Root T., Price J., Hall K., Schneider S., Rosenzweig C., Pounds J., Fingerprints of global warming on wild animals and plants, *Nature* 421 (2003) 57–60.
- [26] Rozenberg P., Franc A., Bastien C., Improving models of wood density by including genetic effects: A case study in Douglas-fir, *Ann. For. Sci.* 58 (2001) 385–394.
- [27] Rozenberg P., Van Loo J., Hannrup B., Grabner M., Clonal variation fo wood density record of cambium reaction to water deficit in *Picea abies* (L.) Karst., *Ann. For. Sci.* 59 (2002) 533–540.
- [28] Rozenberg P., Pâques L., Evidence of the effect of the climate of year 2003 on Douglas-fir and larch wood formation in France, in: Abstract proceedings of conference Impacts of the Drought and Heat in 2003 on Forests, 17–19 November 2004, Freiburg, Germany, 38 p.
- [29] Silen R., Genetics of Douglas-fir, USDA Forest Service, Research Paper, WO – 35, 1978, 34 p.
- [30] Sonesson J., Ericksson G., Genotypic stability and genetic parameters for growth and biomass traits in a water \times temperature factorial experiment with *Pinus sylvestris* L. seedlings, *For. Sci.* 46 (2000) 487–495.
- [31] Sonesson J., Jansson G., Eriksson G., Retrospective genetic testing of *Picea abies* under controlled temperature and moisture regimes, *Can. J. For. Res.* 32 (2002) 81–91.
- [32] Stott P., Stone D., Allen M., Human contribution to the European heat wave of 2003, *Nature* 432 (2004) 610–614.
- [33] Tyree M., Kolb K., Rood S., Patiño S., Vulnerability to drought-induced cavitation of riparian cottonwoods in Alberta: a possible factor in the decline of the ecosystem? *Tree Physiol.* 14 (1994) 455–466.
- [34] Vallée B., Bombraut S., Conséquences de la canicule de l'été 2003 sur les peuplements de Douglas en Sologne, *Forêt entreprise* 159 (2004) 11–13.
- [35] Vargas Hernandez J., Adams W.T., Genetic variation of wood density components in young coastal Douglas-fir: implications for tree breeding, *Can. J. For. Res.* 21 (1991) 1801–1807.
- [36] Vargas-Hernandez J., Adams W.T., Krahmer R.L., Family variation in age trends of wood density traits in young coastal Douglas-fir, *Wood Fiber Sci.* 26 (1994) 229–236.
- [37] Walther G.R., Post E., Convey P., Menzel A., Parmesan C., Beebee T.J.C., Fromentin J.M., Hoegh-Guldberg O., Bairlein F., Ecological responses to recent climate change, *Nature* 416 (2002) 389–395.
- [38] Zahner R., Water deficits and growth of trees, in: Kozłowski T.T. (Ed.), *Water deficits and plant*, Academic Press, New York, 1968, pp. 191–254.
- [39] Zobel B., van Buijtenen J., Wood variation its causes and control, Germany, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1989, 363 p.

Chapitre 3

[Article 3]: Ring density record of phenotypic plasticity and adaptation to drought in Douglas-fir.

Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Dalla-Salda, G., Gallo, L., Pastorino, M., Rozenberg, P. manuscrit soumis à :
Forest Ecology and Management.

**L'enregistrement bois comme réponse des arbres à des contraintes hydriques ;
variation génétique de la dendroplasticité.**

Le changement climatique global est un changement directionnel caractérisé par une augmentation des températures et de la fréquence et de l'intensité des évènements climatiques extrêmes. Il est particulièrement rapide. Il serait plus rapide que le cycle de vie de la plupart des espèces forestières, dont le douglas. Donc la plasticité phénotypique pourrait jouer un rôle déterminant dans l'acclimatation des arbres aux nouvelles conditions climatiques. Nous avons développé une approche indirecte pour synchroniser les variations de la densité du bois à l'intérieur du cerne avec les variations du climat pendant la saison de végétation. Cette approche nous a permis de mesurer la dendroplasticité chez le douglas en utilisant des normes de réactions. Un ajustement non-linéaire de type Boltzmann a été utilisé pour modéliser la forme des normes de réaction. Les paramètres de l'ajustement ont été interprétés comme des caractères biologiquement pertinents et employés pour décrire la réponse des arbres aux contraintes climatiques. Nous utilisons les mêmes dispositifs expérimentaux clonaux que ceux de l'article 2. Un certain nombre de clones en commun et le même indice climatique permettent de construire des normes de réactions comparables entre sites et entre années. Cela nous a permis de mesurer la variation génétique, géographique et temporelle de la dendroplasticité.

L'héritabilité de la dendroplasticité est similaire à celle des caractères de microdensité du bois et supérieure à celle de la largeur du cerne. Les valeurs d'héritabilité des variables de microdensité sont très variables entre caractères, sites

et cernes, avec des valeurs maximum de l'ordre de 0,7 pour différents caractères selon les sites et les cernes : densité moyenne du cerne, densité des points de rupture, position des points de rupture et variables de dendroplasticité. Nous avons trouvé des effets site significatifs pour les variables de dendroplasticité qui peuvent être expliqués par des variations environnementales. Par exemple, les clones communs aux trois sites sont plus sensibles dans le site où le sol est le plus sableux.

La sélection des génotypes avec une dendroplasticité désirable est envisageable dans le cadre de programmes d'amélioration génétique parce que le caractère dendroplasticité possède une héritabilité assez élevée, est relativement facile à mesurer et peut aussi être évalué dans d'autres situations, dans d'autres dispositifs expérimentaux sur d'autres espèces forestières tempérées.

Ce déterminisme génétique permet de formuler des hypothèses sur l'acclimatation du douglas au changement du climat. La plasticité phénotypique, soumise à sélection, peut avoir une importance dans le processus d'évolution des populations d'arbres dans le contexte du changement climatique.

Ring density record of phenotypic plasticity and adaptation to drought in Douglas-fir.

Alejandro Martinez-Meier^{1, 2*}, Leopoldo Sanchez², Guillermina Dalla-Salda^{2, 3},
Leonardo Gallo¹, Mario Pastorino⁴, Philippe Rozenberg².

¹INTA Bariloche, Unidad de Genética Forestal, C.C. 277, (8400), San Carlos de Bariloche, Argentina. Email: almarti@bariloche.inta.gov.ar

* ²INRA Orléans, Unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestières, 2163 Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001 Ardon, 45075 Orléans Cedex 2, France. Email : alejandro.martinez@orleans.inra.fr

³INTA Bariloche, Grupo de Ecología Forestal, C.C. 277, (8400), San Carlos de Bariloche, Argentina.

⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), C.C. 277, (8400), San Carlos de Bariloche, Argentina.

* Corresponding author addresses

Telephone number: +33+238417873

Fax number: +33+238417879

Email: alejandro.martinez@orleans.inra.fr

Keywords: microdensity; climate change; *Pseudotsuga menziesii*.

Abstract

Microdensity profiles of Douglas-fir's clones and weather data were used to study phenotypic plasticity (dendroplasticity). Within-ring microdensity was interpreted as the variation of tree response to weather-controlled changes of water balance during selected growing-seasons. An original norm of reaction was obtained by pairing evident points of abrupt changes in the ring microdensity profiles and in the weather indices. The coefficients of the non-linear models adjusted to the reaction norms were analysed as dendroplasticity variables. Dendroplasticity variables were significantly different between geographical locations, years and clones. Heritability of the dendroplasticity variables ranged from low to high and was similar to heritability values of microdensity variables such as mean ring density (MRD). Coefficients of genetic variation of dendroplasticity variables were intermediate between those of wood density and growth variables. Dendroplasticity variables were phenotypically and genetically related to ring microdensity variables, more strongly to latewood variables. Dendroplasticity provides retrospective, synthetic and easy-to-interpret information about tree response to the variation of the balance between water availability and water demand during the growing season. The proposed model of dendroplasticity is described by a number of parameters that are linked to a biological meaning. Our results suggest that there is a potential for adaptation to drought in Douglas-fir, with two mechanisms involved: at individual level, short-term plastic response during the growing season and, at population level, long-term, between-generation, evolution process.

Introduction

Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) is an important exotic forest species abundantly planted in Europe, mainly in France (De Champs, 1997; Thivolle-Cazat, 2004). This species is particularly sensitive to a reduction of water availability during the growing season (Silen, 1978; Rozenberg and Pâques, 2004; Martinez-Meier et al., 2008a). It has been recently affected by extreme climate events like the 2003 drought and heat wave in Europe, with symptoms ranging from partial to complete foliage necrosis (DSF, 2004; Martinez-Meier et al., 2008b).

A warming climate scenario is predicted (IPCC 2001; 2007), where extreme climate events, like the one in 2003, are expected to increase in frequency and intensity (Meehl et al., 2004; Stott et al., 2004; IPCC 2007). This is a challenge for the survival of vulnerable tree species. Douglas-fir adaptation to the future climate conditions may materialize through different complementary universal processes: exhibiting phenotypic plasticity, through gamete and/or seed dispersal onto new favorable habitats, and through *in situ* population evolution (Rehfeldt et al., 2001; Rehfeldt et al., 2002; St-Clair and Howe, 2007). Climate change appears to be rapid in the last decades. The rate of change may result too rapid for a single tree generation to adapt (St-Clair and Howe, 2007). If the celerity of this climatic change is confirmed in the next years, evolution and migration may play very minor roles in the survival of tree species (Noss, 2002; Rehfeldt et al., 2002; Savolainen et al., 2004). On the contrary, phenotypic plasticity, phenotypic by environment dependencies (DeWitt and Scheiner, 2004), may appear as the most important key process in tree acclimation to unpredictable

environmental trends (Bradshaw, 1965; Bradshaw and Hardwick, 1989) and in the context of the rapid climate changes (Bréda et al., 2006).

Wood record across the tree's life is a measure of individual phenotypic plasticity to climate. In temperate climate wood is formed during a limited part of the year, the growing season. Variations of water balance during the growing season affect cambium activity (Zahner, 1968; Glerum, 1970; Larson, 1994), resulting in variation of the morphology of the xylem cells. These anatomical changes, from thin cell-walls and greater lumen diameters to thicker cell-walls and smaller lumen diameters closely follow weather variations, from wet to dry within the growing season (Larson, 1963; 1994). Thus anatomical differences appear as a plastic reaction to environmental changes. These anatomical changes do not come without a function, as small capillaries have increased resistance to negative tensions, allowing trees to maintain the integrity of their hydraulic system under lower water availability (Hacke et al., 2001; Domec and Gartner, 2002; Taiz and Zeiger, 2006).

In Douglas-fir, microdensity is strongly related to anatomy (Rathgeber et al., 2006). Wood microdensity profiles are integrated measures of wood anatomy. Unlike anatomy, microdensity requires less complex analytical approaches. Recent results show that Douglas-firs surviving to the 2003 drought and heat wave have significantly different microdensity profiles over time before the event compared to non-surviving neighbors (Martinez-Meier et al., 2008b), underlining a potential use of microdensity as an adaptation marker.

The evaluation of phenotypic plasticity requires the construction of a norm of reaction (NoR), a phenotypic response by a given genotype to an environmental gradient

(Sarkar, 1999; Fuller, 2003; Gibert et al., 2004). The NoR obtained from a microdensity profile is denoted here with the neologism *dendroplasticity*. A preliminary study on maritime pine (*Pinus pinaster*) (Sanchez-Vargas et al., 2007) showed a basic approach to construct a dendroplasticity NoR where the within-ring microdensity variation is related to within-growing season weather variation. Sanchez-Vargas et al. (2007) fitted linear models for measuring dendroplasticity in one growing-season (1996) in three clonal sites with different clone composition, using different drought indices for each site. In this study we improve the model used by Sanchez-Vargas et al. (2007) by the use of a unique, biologically more realistic, non-linear model to relate the ring microdensity profile with the corresponding within-growing season weather index. We hypothesise that Douglas-fir can adapt its genetic structures to the future climate conditions and that we can study this phenomena by using wood as a record of tree response to climate. We expect that our results provide information about the adaptation of this species to the on-going global climate change and that they can be used within the frame of its breeding programs.

Material and Methods

Plant material comes from three different experimental clonal trials placed in: Lartimache (West of Massif-Central, Limousin), Chassenoix (Northeast of Massif-Central, Morvan) and Sorèze (South of Massif-Central, Midi-Pyrénées). The same material was also the object of a precedent study concerning the genetic response of Douglas-fir clones to the 2003 drought and heat wave in France (Martinez-Meier et al., 2008a). We used 5 mm increment cores taken at breast height. Increment cores were

analyzed by indirect X-ray densitometry (Polge, 1966) and the resulting X-ray films were scanned. The digital images were processed with WinDENDRO software (Guay et al., 1992), obtaining a final spatial resolution of 25 μm .

To study dendroplasticity it is necessary to synchronize within-ring microdensity variations and weather variations, since wood microdensity profiles are expressed in a distance scale while weather variations come in a time scale (Guay et al., 1992). This synchronization is possible assuming that: a) during the growing season, cambium reacts to weather variations; and b) this reaction is recorded in wood. In this study we used rings with a conspicuous characteristic known as false ring. A false ring is a band of high density wood included in the earlywood, which is known to be low density wood. False rings are responses to particular environmental events in the climatic record. They have already been used to study tree's response to drought constraints (Larson, 1963; Rozenberg et al., 2002). Most microdensity profiles present in each site and year false rings that can be matched to particular climate events, and thus helping to synchronize the distance scale in the microdensity profiles with the time scale in the growing season (Sanchez-Vargas et al., 2007) (Fig. 1a). For each studied site and year we identified different number of points (called breakpoints) to describe within-ring microdensity variation. We assessed for each tree-ring breakpoints density (d_i) and breakpoints position (p_i).

A drought index (DI) characterizes weather variation (Fig. 1b). The DI was computed from weather data provided by Météo France from the closest meteorological stations. It was based on the index of De Martonne (De Martonne, 1926), computed using simple climate variables as: the maximum and minimum daily temperature and

precipitation (mm). For each site and year, the same numbers of weather points (DI value) were identified assuming that breakpoint density variation can be explained by weather DI value.

Fig. 1

We selected for this study the 1996 and 1998 ring-years in Lartimache and Sorèze, and the years 1996 and 2001 in Chassenoix (Table 1). The selected year-rings showed similar patterns of microdensity variation. False peaks determined a characteristic shape in all trees. We used the profiles of 138 trees from 30 different clones in Lartimache; 102 trees from 22 different clones in Sorèze and 104 trees from 23 different clones in Chassenoix. Nine clones are common to the three sites. The replication of several genotypes across three sites allows us to separate the geographical and genetic effects in the estimation of the inter-site phenotypic variation for dendroplasticity.

Table 1

For each site and year, non-linear sigmoidal Boltzmann function was fitted to estimate individual NoR by means of the following expression:

$$y_{x,a,b,c,d} = b + \frac{c - b}{(1 + e^{(a(x-d))})}$$

where: $y_{x,a,b,c,d}$ is the observed breakpoint density, a is the slope of the curve, b is the ground asymptote and was fitted to zero, c is the maximum asymptote and d is the inflexion point. Ground asymptote was fitted to zero because we consider that breakpoints density in this portion of the ring was formed under favourable water balances and thus does not represent a response to drought constraints, but only the value of wood microdensity at the beginning of the growing-season. The resulting NoR measures *dendroplasticity*.

Boltzmann coefficients provide characteristic values, which have a clear biological meaning: a represents the directional increment in wood density in response of trees to drought constraint (hereafter SLO). For instance, the more the negative value of SLO the more rapid the change of wood density in relation to DI increment will be. c define the intensity value of tree response to drought constraints toward the final part of the growing season, when water limitations are more severe (hereafter INT); whereas d , could be interpreted as the susceptibility of tree to drought, because it determines the position of the curve on the abscissa and gives the value of DI corresponding to 50 % wood density increase (hereafter SUS). SLO, INT and SUS define dendroplasticity variables at individual tree. The non-linear sigmoidal Boltzmann models were adjusted using the *drm* function in the *drc* library of the R software (R Development Core Team 2008).

Fig. 2

The following ring variables were also calculated: ring width (RW), mean ring density (MRD), minimum ring density (MID), maximum ring density (MAD), earlywood and latewood width (EW and LW, respectively), earlywood and latewood mean density (EWD and LWD, respectively), earlywood proportion (EWP), mean density point (MDP) defined as: $(MID + ((MAD - MID) / 2))$ and within-ring standard deviation as a measure of the intra-ring density dispersion (STD). Earlywood (or latewood) mean density was computed as the average ring density of all values lower (or higher) than the MDP. Earlywood and latewood ring width were computed as the distance from the ring's beginning to the MDP position, and from MDP to the end of the ring, respectively (Zamudio et al., 2005).

The nine clones common to the three sites allow compute inter-site phenotypic variation of dendroplasticity in the only year in common to the three sites (1996), by means of the following ANOVA model:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

where: y_{ijk} is the k th dendroplasticity variable observable in the i th site and the j th level of factor clone, μ is the overall mean effect, τ_i is the fixed effect of i th level of factor site, β_j is the fixed effect of the j th level of factor clone (9 common clones to the three sites), $(\tau\beta)_{ij}$ is the interaction between the i th level of factor site and the j th level of factor clone, and ε_{ijk} is the ijk th random error.

Whereas inter-annual variations were analyzed independently in the 3 sites using all available clones in each site:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

where: y_{ijk} is the k th dendroplasticity variable observable in the i th year and the j th level of factor clone, μ is the overall mean effect, α_i is the fixed effect of i th level of factor year, β_j is the fixed effect of the all j th level of factor clone, $(\alpha\beta)_{ij}$ is the interaction between the i th level of factor year and the all j th level of factor clone, and ε_{ijk} is the ijk th random error. A similar model was used to compute phenotypic variation of the ring variables.

We used the following mixed-effects model to assess the degree of genetic control for dendroplasticity variables as well as for ring variables in each site and year. The model was run with the *lmer* function in R software (R Development Core Team 2008):

$$y_i = \mu + \tau_i + \varepsilon_i$$

where: y_i is the i th observed variable, μ is the overall fixed effect of the mean value, τ_i is the random effect of the i th clone and ε_i is the random error.

We calculated the degree of genetic determination or broad-sense heritability as:

$$H^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2}$$

where: σ_g^2 is the genetic component of variance, and σ_e^2 is the error component of variance.

The corresponding standard error of the heritability was estimated according to Falconer and Mackay (1996) as:

$$s.e.H^2 = \sqrt{\frac{((2 * 1 + har - 1) * H^2)^2 * (1 - H^2)^2}{(har * (har - 1) * (n - 1))}}$$

where: har is the harmonic mean of individuals in each clone, and n is the number of clones.

We computed phenotypic (r_p) and type A total genetic correlations (r_G , additive and non additive portion) between the ring variables and dendroplasticity variables for each site and year. Phenotypic correlations were computed at individual level. Genetic correlations were assessed by means of the following equation:

$$r_G = \frac{[\sigma_g(x+y) - (\sigma_g(x) + \sigma_g(y))]/2}{\sqrt{\sigma_g(x) * \sigma_g(y)}}$$

where: $\sigma_g(x+y)$ is the genetic component of variance of the sum of trait 1 and trait 2, $\sigma_g(x)$ is the genetic component of variance of trait 1, and $\sigma_g(y)$ is the genetic component of variance of trait 2. Phenotypic and genetic correlations were computed by means of the R software (R Development Core Team 2008).

The approximate standard errors of r_G were computed following Falconer and Mackay (1996) equation:

$$s.e.r_G = \frac{1-r_G^2}{\sqrt{2}} \sqrt{\left[\frac{s.e.H_x^2 * s.e.H_y^2}{H_x^2 * H_y^2} \right]}$$

where: H_x^2 and H_y^2 are the broad-sense heritabilities of trait 1 and trait 2, respectively, and $s.e.H_x^2$ and $s.e.H_y^2$ their respective standard errors.

Results

The adjusted coefficients of determination ($adjR^2$), as a measure of goodness-of-fit of the non-linear regressions used to measure dendroplasticity, showed a good fit judging

for the median value of $adjR^2$ for all sites and years ($adjR^2 = 0.91$) (Fig. 3). Only 6.6 % of the trees showed values of $adjR^2$ inferior to 0.7.

Fig. 3

We present in table 2 the mean and the associated standard deviation of dendroplasticity variables and microdensity variables taking into account all clones in each site and year-rings. Similar values were found using only the nine clones that were common to the three sites. For example, SLO in 1996 was -1.90, -1.12 and -0.86 in Lartimache, Sorèze and Chassenoix respectively.

Table 2

Dendroplasticity variables varied across sites and years (Table 3). Inter-site analyses of variance showed the presence of significant variation for all dendroplasticity variables due to site and clone effects. Clone means were relatively stable across sites only for SLO, given the absence of significant interaction between sites and clones. Across years, almost all dendroplasticity variables (except INT in Lartimache and SUS in Chassenoix) showed significant variation due to year effect; whereas clone effect was always a significant part of the inter-annual phenotypic variation (Table 3). Inter-site and inter-annual significant genetic effects were found for microdensity variables (result not showed here).

Table 3

In table 4 we show the degree of genetic determination, the associated standard error and the coefficient of genetic variation (CV_G) for all dendroplasticity and ring variables analyzed in this study. We found a weak to moderate broad-sense heritability for SLO (from 0.26 ± 0.11 to 0.52 ± 0.10), and SUS (from 0.27 ± 0.09 to 0.59 ± 0.09), whereas, weak to strong H^2 was found for INT (from 0.21 ± 0.10 to 0.70 ± 0.08). Almost all ring variables showed a moderate to high broad-sense heritability (except LW in Lartimache 1998, $H^2 = 0.04$ and $s.e.H^2 = 0.09$). The ring variable with the largest H^2 was MRD, followed by STD, MDP, LWD and MAD. H^2 of dendroplasticity variables was similar to that of the microdensity ring variables and higher than that of RW. The coefficient of genetic variation of RW, EW and LW was greater than those of dendroplasticity variables and density components. Between dendroplasticity variables, SLO had the highest genetic variation coefficient. High heritability values ($H^2 > 0.6$) corresponded generally to lower values of genetic variation coefficient (result not showed here). Almost all breakpoints density and position had low to strong H^2 ranging from 0.20 ± 0.11 to 0.75 ± 0.07 (results not showed).

Table 4

Phenotypic and genetic correlations (only those significantly different from zero) are shown in figure 4. Phenotypic and genetic correlations showed similar correlation patterns. In general, genotypic correlations were larger than their phenotypic

counterparts. Over sites and years, higher increments of wood density (SLO) resulted in increments of STD (r_p from, LWD (r_p from and MAD (r_p from, and corresponding reductions in EWD (r_p from. For most sites and years, INT were positively correlated to STD (r_p from 0.47 to 0.88), LWD (r_p from 0.19 to 0.92), MAD (r_p from 0.20 to 0.91) and MDP (r_p from 0.20 to 0.86).

Concerning genetic correlations, despite only nine genetic entities are common to all sites, selection for some dendroplasticity variables affects similarly some microdensity variables. A main result is that negative genetic correlations were found between SLO and the following ring variables: STD (r_G from -0.44 ± 0.11 to -1 ± 0.07), LWD (r_G from -0.21 ± 0.29 to -0.61 ± 0.10) and MAD (r_G from -0.26 ± 0.30 to -0.70 ± 0.13). Note that a rapid change in within-ring wood density is achieved by a more negative value of SLO, thus increasing STD, LWD and MAD. On the other hand, positive genetic correlation was found with EWD (r_G from 0.34 ± 0.16 to 0.88 ± 0.03). In all sites and years we found positive genetic correlations between INT and MDP (r_G from 0.30 ± 0.16 to 0.93 ± 0.01), MAD (r_G from 0.26 ± 0.21 to 0.94 ± 0.01) and LWD (r_G from 0.20 ± 0.26 to 0.98 ± 0.01). Except for Chassenoix 1996 genetic correlations between INT and RW was negative, and between INT and MRD and between INT and STD were positive and relatively high (r_G from -0.58 ± 0.20 to -0.33 ± 0.16 , from 0.51 ± 0.07 to 0.95 ± 0.02 and from 0.59 ± 0.05 to 0.97 ± 0.01 respectively).

Fig. 4

Low to high (r_G from 0.19 ± 0.20 to 0.90 ± 0.05) positive genetic correlations were found between SLO and SUS. For the association between SLO and INT, only in Chassenoix and Lartimache in the year 1996 was different from zero, but of different sign (r_G 0.83 ± 0.10 and -0.44 ± 0.11 respectively). Between INT and SUS positive genetic correlation was found only in Sorèze and Chassenoix. In Sorèze we found the strongest positive genetic association ($r_G = 0.70 \pm 0.05$ and $r_G = 0.68 \pm 0.05$ in 1996 and 1998, respectively), whereas in Chassenoix the genetic correlation ranged from moderate to high (r_G from 0.43 ± 0.35 to 0.75 ± 0.08 in 2001 and 1996 respectively). In Lartimache the genetic correlations were not significantly different from zero.

Discussion

Within-ring wood record variation of tree-response to drought constraints can be interpreted in terms of plasticity of wood formation (Sanchez-Vargas et al. 2007). In the present study, we further develop this latter idea of fitting dendroplasticity records to drought constraints with the help of non-linear models. These latter models are usually preferred to linear models to construct norms of reaction through a gradient of environmental variation (David et al., 1998; Gibert et al., 2004; Valladares et al., 2007). Results suggest that dendroplasticity is better explained under such models, as indicated by the high values for the adjusted R^2 that were obtained in the analyses. Furthermore, the proposed model is well described by a number of parameters that are easily linked to a biological meaning. For instance, SLO describes the rate to which an individual responds to a given drought constraint, it is a measure of biological reactivity. INT describes the maximum density at the end of the growing season, when

the balance between water demand and water availability is unfavourable, and it can be interpreted as the maximum intensity of the response to drought. Finally, SUS is the value in the x-axes of the inflexion point of the curve for which corresponds the 50 % of wood density increase: it describes tree's susceptibility to drought, where low SUS means high susceptibility to drought. We consider that these descriptors are ecologically more relevant than the microdensity ring variables alone, because the former descriptors are expressed as a function of environmental conditions. They appear to be genetically variable, with coefficients of genetic variation being generally larger than for the microdensity ring variables. They can serve to characterize single trees in terms of their acclimation to weather events, and make inferences on tree-response to the balance between water availability and water demand during the growing season.

In our study, climate variation during the growing season was described with the same DI for all sites and years. Using same DI with an identical set of genetic entities gave us the possibility to quantify phenotypic and genetic variation for dendroplasticity. Chassenoix was the site where trees showed higher susceptibility (lower SUS values) to drought. Significant between-site differences for SUS arguably reflect differences in soil moisture content. In Chassenoix, soil texture is sandy-clay, different from Lartimache and Sorèze, with clay-sandy and loam-clay-sandy soil texture, respectively. This soil texture affects water availability during the growing season: water deficit will appear earlier in Chassenoix than in Lartimache and Sorèze. All clones in Chassenoix showed a wood density increase at a lower DI, as if they were more stressed than in any of both other sites.

Almost all dendroplasticity variables showed significant year effects. This significant temporal variation for dendroplasticity could be associated to the timing of the drought events, and be observed in SLO differences. For instance, the year 1996 was characterized by a severe heat and drought wave (Bréda et al., 2004), while 1998 was marked by a moderate water deficit but occurring 20 days earlier in the growing season (weather data provided by Météo France).

It is well documented that wood density has consistently high levels of heritability across many species (Zobel and van Buijtenen, 1989; Cornelius, 1994; Zobel and Jett, 1995), and Douglas-fir is not an exception to that trend (Johnson and Gartner 2006). An important finding of our study is that clonal differences made up an essential component of observed variability for dendroplasticity, which denoted non negligible genetic variation. Broad-sense heritability for dendroplasticity variables was similar to that of most wood density parameters, and higher than those shown for RW, EW and LW. The coefficients of genetic variation for dendroplasticity variables were, generally, in-between those of wood density and those known for growth (except for SUS). INT's heritabilities were comparable to those of MRD, STD and latewood density parameters, whereas SLO and SUS heritabilities were similar to those of earlywood density parameters. High heritabilities and coefficients of genetic variation for dendroplasticity suggest that high selection responses should be expected from selection of clones following a given norm of reaction. Therefore, the existence of genotypic variation for dendroplasticity, the fact of being a trait linked to acclimation, its feasibility to measure and repeatability could all make dendroplasticity highly relevant as a novel trait in forest breeding programs.

High genetic correlations between two different characters hint at common genetic basis (Falconer and Mackay 1996). Genetic correlations can either facilitate or impede adaptation of either trait when counterpart is selected, whether the sign of the correlation and the direction of selection are synergic or not (Lynch and Walsh 1998; Etterson and Shaw 2001). An eventual selection on dendroplasticity descriptors, as the ones presented here, may result in correlated response in microdensity traits. For instance, increasing SLO would expectantly increase STD, MAD and LWD, while selecting for higher INT would result in higher MAD and LWD. SUS, on the other hand, would be increased if SLO is selected for higher values, in other words: a more rapid wood density increase over a drought index gradient is related to a high susceptibility of tree to drought constraints.

Note however that in this study we worked with clones and, therefore, it is thus not possible here to further decompose genetic variation into its elementary components, i.e. additive versus non additive sources of genetic variation. Only the additive component is subjected to recurrent selection to result in an evolving population. Therefore, adaptation requires additive variation, but the existence of the latter does not necessarily implies the quality of the former. We are still far from demonstrating the adaptive nature of dendroplasticity; this is beyond the scope of this study.

Plasticity could be considered adaptive when plastic genotypes show better acclimation and fitness over all environments than their non plastic counterparts (Thompson, 1991). Some recent results start to suggest that there is a link between dendroplasticity and adaptation. Martinez-Meier et al (2008b) show the existence of significant differences for ring microdensity parameters between alive and dead

neighbouring Douglas-fir trees after the 2003 drought and heat wave in France. In this study, surviving trees had consistently higher mean ring density, latewood density, latewood proportion and maximum ring density than their dead counterparts. Some authors (Waring and Running, 1978; Schiller and Cohen, 1995; Domec and Gartner, 2002; Beedlow et al., 2007) suggest that in Douglas-fir ring density components are related to adaptive hydraulic properties of wood: higher latewood/earlywood ratio for density could be then interpreted as a strategy to grow in favourable initial wet conditions during the spring and dry stressing conditions in the summer. Trees lacking such capacity of changing greatly their density over the growing season would be penalized. Further research is needed though, where dendroplasticity is compared between sane and suffering trees, in order to validate the adaptive value of dendroplasticity.

Conclusions

Dendroplasticity is a powerful tool providing retrospective, synthetic and easy-to-interpret information about tree response to the variation of balance between water availability and water demand during the growing season. The model presented and used in this study is an improvement of the model developed by Sanchez-Vargas et al (2007). The proposed model is well described by a number of parameters that are easily linked to a biological meaning, like the biological reactivity to a drought constraint, the maximum intensity of the response to drought, and tree's susceptibility to drought. Still, the synchronization is a limiting phase, as it requires year-rings

including false rings. New refinements are necessary in order to extend this type of analysis to any form of ring of softwood trees grown under temperate climate.

Acknowledgements

We would like to thank Frédéric Millier for the X-ray microdensity profiles and FCBA (forêt, cellulose, bois-construction, ameublement, www.fcba.fr/accueil.php) for providing the genetic tests and the plant material that was used in this study.

References

Beedlow, P., Tingey, D., Waschmann, R.; Phillips, L., Johnson, M., 2007. Bole water content shows little seasonal variation in century-old Douglas-fir trees. *Tree Physiology* 27, 737-747.

Bradshaw, A.D., 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* 13, 115-155.

Bradshaw, A.D., Hardwick, K., 1989. Evolution and stress-genotypic components. *Biological Journal of the Linnean Society* 37, 137-155.

Bréda, N., Granier, A., Aussenac, G., 2004. La sécheresse de 2003 dans le contexte climatique des 54 dernières années: analyse écophysiological et influence sur les arbres forestiers. *Revue Forestière Française* 56, 109-131.

Bréda, N., Huc, R., Granier, A., Dreyer, E., 2006. Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science* 63, 625-644.

Campbell, R., Sugano, A., 1975. Phenology of bud burst in Douglas fir related to provenance, photoperiod, chilling and flushing temperature. *Botanical Gazette* 136 (3), 290-298.

Cornelius, J., 1994. Heritabilities and additive genetic coefficients of variation in forest trees. *Canadian Journal of Forest Research* 24, 372-379.

David, J.R., Gibert, P., Gravot, E., Pétavy, G., Morin, J.P., Karan, D., Moreteau B., 1997. Phenotypic plasticity and developmental temperature in *Drosophila* : analysis and significance of reaction norms of morphometrical traits. *Journal of Thermal Biology* 22 (6), 441-451.

De Champs, J., 1997. Le Douglas. Afocel, Paris, France.

De Martonne, E., 1926. L'indice d'aridité. Bulletin de l'Association des géographes français 9, 3-5.

DeWitt, T., Scheiner, S.M., 2004. Phenotypic Plasticity. Functional and Conceptual Approaches. Oxford University Press, Inc, UK.

Domec, J.C., Gartner, B.L., 2002. How do water storage differ in coniferous earlywood and latewood? Journal of Experimental Botany 53, 2369-2379.

DSF, 2004. Sécheresse et canicule de l'été 2003. Quelle incidence visuelle sur les peuplements forestiers? Information Santé des Forêt. URL: http://www.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/isfweb_long.pdf

Etterson J.R., Shaw, R.G., 2001. Constraint to adaptive evolution in response to global warming. Science 294 (5), 151-154.

Falconer, D.S., Mackay, T.F., 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4th ed. Longmans Green, Harlow, Essex, UK.

Fuller, T., 2003. The Integrative Biology of Phenotypic Plasticity. Book Review, Biology and Philosophy 18, 381-389.

Gibert, P., Moreteau, B., David J.R., 2004. Phenotypic plasticity of body pigmentation in *Drosophila melanogaster*. Genetic repeatability of quantitative parameters in two successive generations. Heredity 92, 499-507.

Glerum, C., 1970. Drought ring formation in conifers. Forest Science 16, 246-248.

Guay, R., Gagnon, R., Morin, H., 1992. A new automatic and interactive tree ring measurement system based on a line scan camera. Forest Chronicle 68, 138-141.

Hacke, U., Sperry, J., Pockman, W., Davis, S., McCulloh, K., 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126, 457-461.

IPCC, 2001. Climate Change 2001. Synthesis report. Summary for policymakers. URL: <http://www.ipcc.ch/pdf/climate-changes-2001/synthesis-spm/synthesis-spm-en.pdf>

IPCC, 2007. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Summary for Policymakers. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. URL: <http://www.ipcc.ch/SPM2feb07.pdf>

Johnson, G.R., Gartner, B., 2006. Genetic variation in basic density and modulus of elasticity of coastal Douglas-fir. *Tree Genetics & Genomes* 3, 25-33.

Larson, P.R., 1963. The indirect effect of drought on tracheid diameter in red pine. *Forest Science* 9, 52-62.

Larson, P.R., 1994. The vascular cambium, development and structure, Springer Verlag, Heidelberg & Berlin, Germany.

Lynch, M., Walsh, B., 1998. Genetics and analysis of quantitative traits. Sinauer Associates, Inc, Massachusetts, US.

Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Dalla-Salda, G., Pastorino, M., Gautry, J.Y., Gallo, L., Rozenberg, P., 2008a. Genetic control of the tree-ring response of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) to the 2003 drought and heat-wave in France. *Annals of Forest Science* 65 (102), DOI: 10.1051/forest:2007074.

Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Pastorino, M., Gallo, L., Rozenberg, P., 2008b. What is hot in tree rings? The wood density of surviving Douglas-firs to the 2003 drought and heat wavel. *Forest Ecology and Management* 256 (4), 837-843.

Meehl, G., Tebaldi, C., 2004. More Intensive, More Frequent, and Longer Lasting Heat Waves in the 21st Century. *Science* 305, 994.

Noss, R., 2002. Beyond Kyoto, Forest Management in a Time of Rapid Climate Change. *Conservation Biology* 15 (3), 578-590.

Polge, H., 1966. Etablissement des courbes de variations de la densité du bois par exploration densitométrique de radiographies d'échantillons prélevés à la tarière sur des arbres vivants. Application dans les domaines technologiques et physiologiques. PhD thesis, Université de Nancy, Nancy.

R Development Core Team 2008. R: A language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org>.

Rathgeber C., Decoux V., Leban J.M., 2006. Linking intra-tree-ring wood density variations and tracheid anatomical characteristics in Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). *Annals of Forest Science* 63, 699-706.

Rehfeldt G., Wykoff W., Ying C., 2001. Physiologic Plasticity, Evolution and Impacts of a Changing Climate on *Pinus contorta*. *Climate Change* 50, 355–376.

Rehfeldt, G., Tchebakova, N.M., Parfenova, Y., Wykoff, W., Kuzmina, N., Milyutin, L., 2002. Intraspecific responses to climate in *Pinus sylvestris*. *Global Change Biology* 8 (9), 912-929.

Rozenberg, P., Van Loo, J., Hannrup, B., Grabner, M., 2002. Clonal variation of wood density record of cambium reaction to water deficit in *Picea abies* (L.) Karst. *Annals of Forest Science* 59, 533-540.

Rozenberg, P., Pâques, L., 2004. Evidence of the effect of the climate of year 2003 on Douglas-fir and larch wood formation in France. In: Abstracts of Scientific Conference, Impacts of the Drought and Heat in 2003 on Forests. Freiburg, Germany, 17-19 November.

Rozenberg, P., Schüte, G., Ivkovich, M., Bastien, C., Bastien, J.C., 2004. Clonal variation of indirect cambium reaction to within-growing season temperature changes in Douglas-fir. *Forestry* 77, 257-268.

Sanchez-Vargas, N., Sanchez, L., Rozenberg, P., 2007. Plastic and adaptive response to weather events: a pilot study in a maritime pine tree ring, *Canadian Journal of Forest Research* 37, 2090–2095.

Sarkar, S., 1999. From the Reaktionsnorm to the Adaptive Norm: The Norm of Reaction, 1909–1960. *Biology and Philosophy* 14, 235–252.

Savolainen, O., Bokma, F., García-Gil, R., Komulainen, P., Repo, T., 2004. Genetic variation in cessation of growth and frost hardiness and consequences for adaptation of *Pinus sylvestris* to climatic changes. *Forest Ecology and Management* 197, 79–89.

Silen, R., 1978. Genetics of Douglas-fir. USDA Forest Service, Research Paper, WO-35: 34 p.

St. Clair, J.B., Howe G., 2007. Genetic maladaptation of coastal Douglas-fir seedlings to future climates. *Global Change Biology* 13, 1441–1454.

Stott, P., Stone, D., Allen, M., 2004. Human contribution to the European heat wave of 2003. *Nature* 432, 610-614.

Sultan, S., 2004. Promising directions in plant phenotypic plasticity. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 6, 227-233.

Taiz, L., Zeiger, E., 2006. *Plant physiology*. 4th ed. Sinauer Associates, Inc, Massachusetts, US.

Thivolle-Cazat, A., 2004. Le Douglas en France : une ressource résineuse en pleine expansion.

URL: <http://www.afocel.fr/Foret/Ressources/Douglas/4%20pagesF.Douglas.pdf>

Thompson, J.D., 1991. Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trends in Ecology and Evolution* 6, 246-249.

Valladares, F., Gianoli, E., Gómez, J.M., 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *Review. New Phytologist* 176, 749-763.

Waring, R., Running, S., 1978. Sapwood water storage: its contribution to transpiration and effect upon water conductance through the stems of old-growth Douglas-fir. *Plant Cell and Environment* 1, 131-140.

Zahner, R., 1968. Water deficits and growth of trees. In: Kozlowski T.T. (eds.) *Water deficits and plant growth*, pp. 191-254. Academic Press, NY, US.

Zamudio, F., Rozenberg, P., Baettig, R., Vergara, A., Yañez, M., Gantz, C., 2005. Genetic variation of wood density components in a radiata pine progeny test located in the south of Chile. *Annals of Forest Science* 62, 105-114.

Zobel, B.J., Jett, J.B., 1995. *Genetics of wood production*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Zobel, B., van Buijtenen, J., 1989. Wood variation its causes and control.
Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Table 1 Sites, years, period between first and last identified breakpoint, number of breakpoints and the maximum and minimum DI computed in each site and year.

Site	Year	breakpoint period from -to	number of breakpoints	DI max - min
Lartimache	1996	April 15 st – 30 th August	7	9.7 – 4.9
Lartimache	1998	April 1 st – 10 th August	10	8.5 – 2.1
Sorèze	1996	April 10 ^{er} – 30 th August	10	10.8 – 5.1
Sorèze	1998	April 4 th – 27 th July	8	10.2 – 3.2
Chassenoix	1996	March 25 th – 31 th July	7	9.1 – 2.6
Chassenoix	2001	April 1 ^{er} – 3 ^{er} August	8	8.7 – 1.9

Table 2 Mean values and associated standard deviation of dendroplasticity and microdensity variables (RW in mm; MRD, MDP, MID, MAD, EWD and LWD in g/cm³ and EWP in %) taking into account all Douglas-fir clones in each site and year.

Variables	Sites and years					
	Lartimache 1996	Lartimache 1998	Sorèze 1996	Sorèze 1998	Chassenoix 1996	Chassenoix 2001
RW	5.99 ± 1.57	5.76 ± 1.64	8.09 ± 1.50	6.69 ± 1.41	6.86 ± 1.40	8.66 ± 2.09
MRD	0.47 ± 0.05	0.46 ± 0.05	0.38 ± 0.03	0.41 ± 0.04	0.41 ± 0.04	0.37 ± 0.03
MDP	0.50 ± 0.04	0.48 ± 0.03	0.39 ± 0.02	0.41 ± 0.03	0.48 ± 0.03	0.46 ± 0.03
MID	0.18 ± 0.03	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.03	0.17 ± 0.02
EW	3.35 ± 1.13	2.65 ± 1.20	3.78 ± 1.26	2.75 ± 1.04	4.33 ± 1.38	6.25 ± 2.02
EWD	0.25 ± 0.04	0.24 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.27 ± 0.04	0.26 ± 0.04
EWP	55.18 ± 9.16	44.75 ± 10.02	46.41 ± 11.11	40.60 ± 9.97	62.18 ± 10.99	71.20 ± 9.39
MAD	0.82 ± 0.07	0.79 ± 0.06	0.61 ± 0.05	0.65 ± 0.05	0.77 ± 0.04	0.76 ± 0.06
LW	2.64 ± 0.77	3.11 ± 0.77	4.30 ± 1.10	3.94 ± 0.96	2.53 ± 0.75	2.40 ± 0.73
LWD	0.69 ± 0.06	0.65 ± 0.07	0.50 ± 0.04	0.53 ± 0.04	0.63 ± 0.04	0.63 ± 0.05
STD	0.23 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.14 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.18 ± 0.02
SLO	-2.00 ± 0.30	-0.66 ± 0.17	-1.12 ± 0.24	-0.60 ± 0.10	-0.85 ± 0.57	-0.66 ± 0.10
INT	0.74 ± 0.07	0.75 ± 0.08	0.54 ± 0.05	0.65 ± 0.07	0.74 ± 0.06	0.64 ± 0.09
SUS	5.63 ± 0.10	4.23 ± 0.64	5.74 ± 0.23	5.31 ± 0.40	3.82 ± 0.63	3.90 ± 0.53

Table 3 Results of the inter-site and inter-annual analysis of variance (F value and code for associated probability) using 9 common clones and all clones in each site, respectively.

Inter-site phenotypic variation for year 1996			
Source of variation	Dendroplasticity		
	SLO	INT	SUS
Site	90.63***	222.39***	624.47***
Clone	2.28*	4.34***	7.99***
Interaction	1.51ns	4.12***	5.07***

Inter-annual phenotypic variation			
	SLO	INT	SUS
Lartimache			
Year	2938.65***	0.62ns	301.12***
Clone	4.96***	5.74***	3.16***
Interaction	2.45***	1.74*	4.29***
Sorèze			
Year	601.59***	448.85***	181.87***
Clone	5.64***	17.27***	8.81***
Interaction	1.88*	2.40**	3.46***
Chassenoix			
Year	12.13***	91.07***	0.07ns
Clone	2.25**	1.96**	3.17***
Interaction	1.65*	2.56***	3.09***

Codes for associated probability: between 0 and 0.001 = ***, between 0.001 and 0.01 = **, between 0.01 and 0.05 = *, and >0.5 = ns.

Table 4 Degrees of genetic determination (associated standard error) and genetic variation (CV_G) for dendroplasticity and ring microdensity variables assessed.

Variable	Sites and years											
	Lartimache 1996		Lartimache 1998		Sorèze 1996		Sorèze 1998		Chassenoix 1996		Chassenoix 2001	
	H^2 (s.e. H^2)	CV_G	H^2 (s.e. H^2)	CV_G	H^2 (s.e. H^2)	CV_G	H^2 (s.e. H^2)	CV_G	H^2 (s.e. H^2)	CV_G	H^2 (s.e. H^2)	CV_G
RW	0.32 (0.09)	14.26	0.20 (0.10)	12.37	0.30 (0.11)	9.72	0.18 (0.10)	8.57	0.36 (0.11)	11.88	0.35 (0.11)	13.8
MRD	0.53 (0.08)	8.08	0.63 (0.08)	8.45	0.58 (0.09)	6.27	0.60 (0.09)	6.87	0.67 (0.08)	8.60	0.65 (0.08)	7.41
MDP	0.60 (0.08)	5.96	0.60 (0.09)	5.17	0.56 (0.10)	4.49	0.70 (0.08)	5.76	0.54 (0.10)	3.83	0.24 (0.10)	3.05
MID	0.15 (0.08)	5.17	0.51 (0.09)	8.57	0.20 (0.10)	5.81	0.34 (0.11)	5.23	0.43 (0.11)	9.62	0.23 (0.10)	4.77
EW	0.36 (0.09)	19.39	0.27 (0.11)	22.37	0.51 (0.11)	22.9	0.40 (0.11)	23.04	0.52 (0.10)	22.67	0.41 (0.10)	19.87
EWD	0.35 (0.09)	9.46	0.64 (0.08)	11.69	0.19 (0.10)	5.97	0.53 (0.10)	9.45	0.51 (0.10)	10.55	0.27 (0.11)	5.75
EWP	0.43 (0.09)	10.36	0.26 (0.11)	10.96	0.42 (0.11)	14.8	0.54 (0.10)	17.62	0.49 (0.10)	11.86	0.51 (0.10)	9.01
MAD	0.63 (0.07)	6.76	0.51 (0.09)	5.08	0.59 (0.09)	5.54	0.71 (0.08)	6.80	0.36 (0.11)	2.98	0.35 (0.10)	4.27
LW	0.33 (0.09)	16.21	0.05 (0.09)	5.15	0.17 (0.10)	10.11	0.26 (0.11)	12.07	0.23 (0.11)	13.51	0.40 (0.11)	18.54
LWD	0.59 (0.08)	6.27	0.55 (0.09)	8.88	0.70 (0.08)	7.06	0.68 (0.08)	7.02	0.38 (0.11)	3.58	0.34 (0.11)	4.12
STD	0.53 (0.08)	10.34	0.49 (0.10)	10.87	0.67 (0.08)	15.78	0.72 (0.07)	12.37	0.40 (0.11)	7.83	0.50 (0.10)	9.04
SLO	0.37 (0.09)	8.92	0.38 (0.11)	15.87	0.38 (0.11)	13.02	0.52 (0.10)	11.92	0.16 (0.10)	25.32	0.26 (0.11)	7.76
INT	0.58 (0.08)	7.26	0.29 (0.11)	5.55	0.70 (0.08)	8.36	0.70 (0.08)	8.32	0.33 (0.11)	4.51	0.21 (0.10)	6.38
SUS	0.27 (0.09)	0.85	0.36 (0.11)	8.80	0.58 (0.09)	2.93	0.59 (0.10)	5.79	0.54 (0.10)	11.92	0.13 (0.09)	4.70

FIGURE CAPTION

Figure 1 Illustrates an example of the characteristic curve shapes (two marked peaks) showing the seven identified breakpoints found in all trees for one analyzed year and site (Figure 1a) and daily drought index variation (dotted line) and the smoothed values (solid line) used to synchronized whiting-ring wood density variation with weather variation (Figure 1b). Example to the same year and site Douglas-fir's growing season.

Figure 2 Illustrative example of the non-linear Boltzmann models describing dendroplasticity.

Figure 3 Distributions of the *adjusted* R^2 non-linear regression models fitted at tree level. The vertical line is the median value. The minimum and maximum value of $\text{adj}R^2$ was 0.53 and 0.99 respectively.

Figure 4 Phenotypic (a) and genetic (b) correlation (only genetic correlations different to zero) between dendroplasticity and microdensity variables. Each symbol represents one site and one year: ∇ Lartimache 1996, \boxtimes Lartimache 1998, $*$ Sorèze 1996, \diamond Sorèze 1998, \triangle Chassenoix 1996 and \diamond Chassenoix 2001.

FIGURE 1a

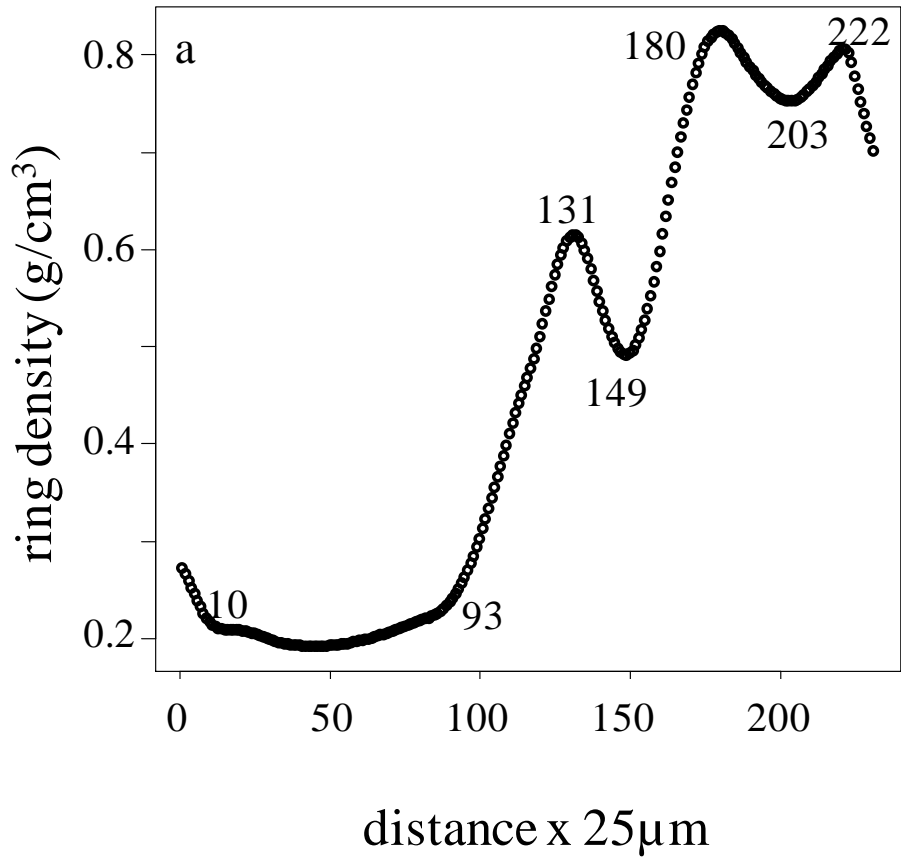


FIGURE 1b

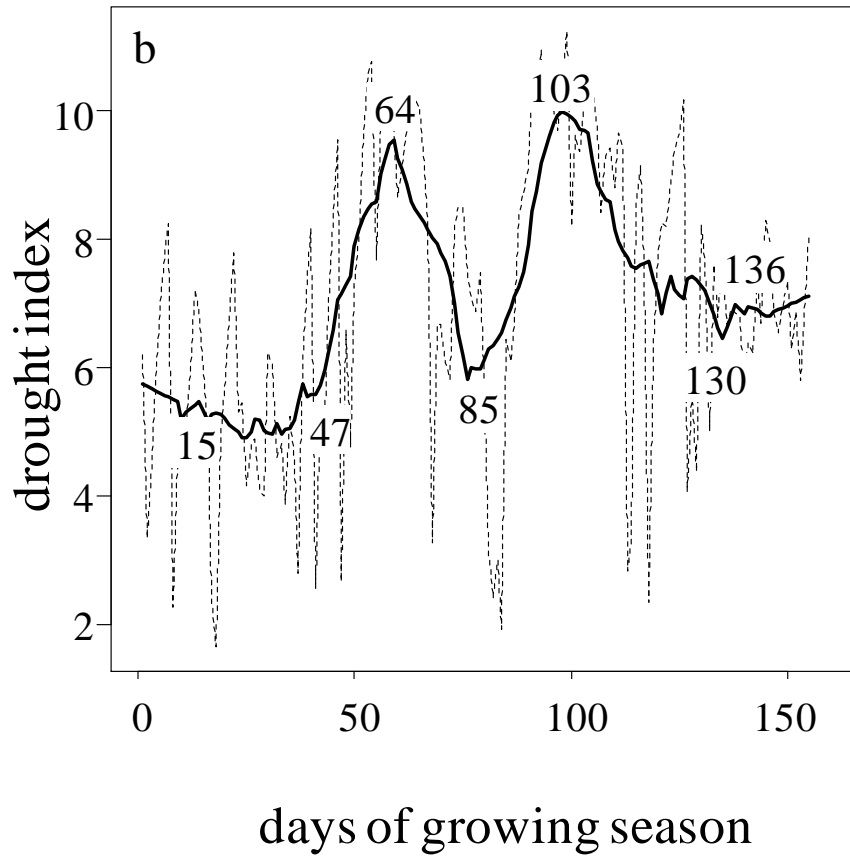


FIGURE 2

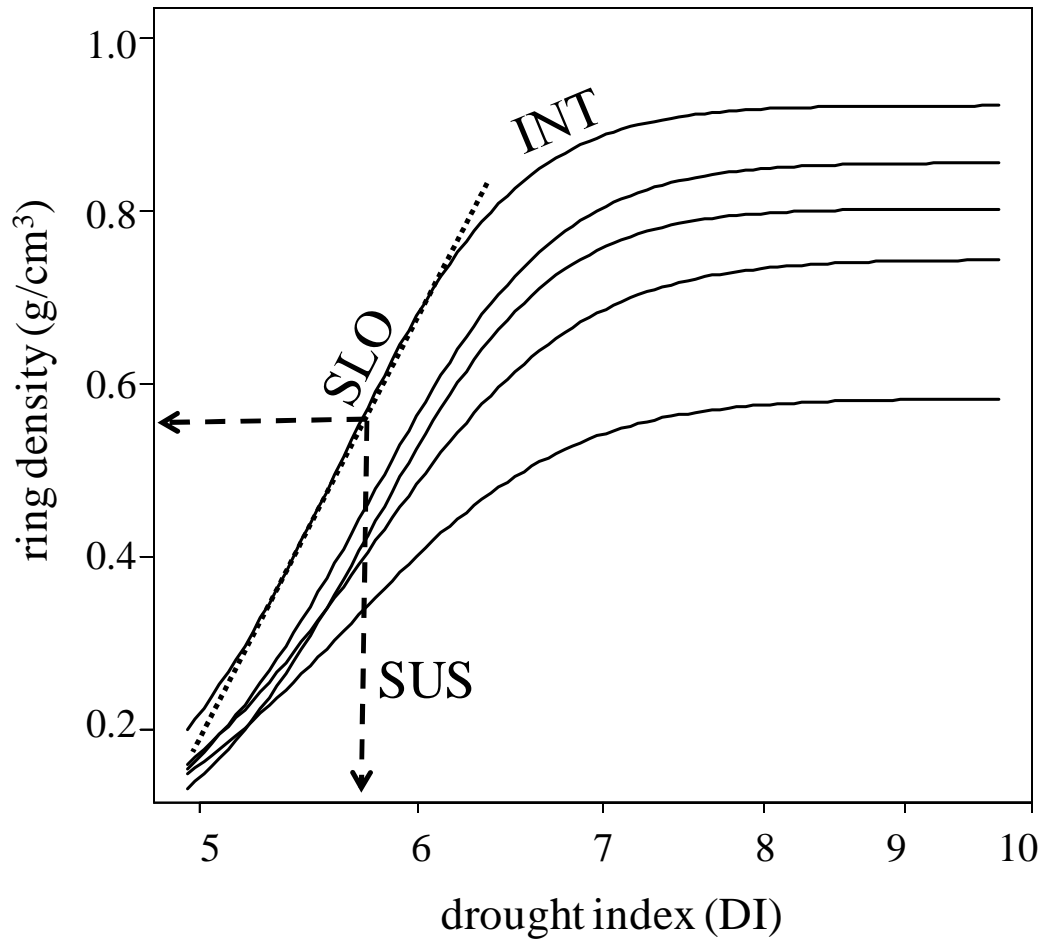


FIGURE 3

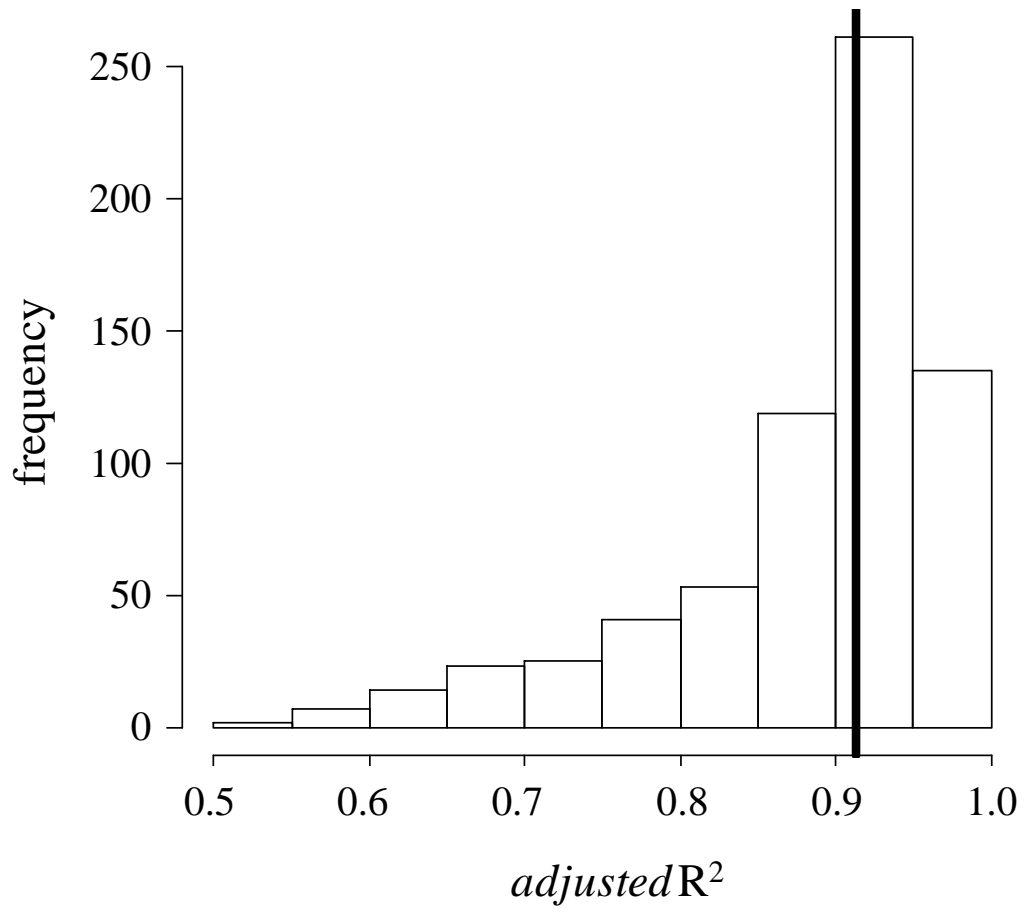


FIGURE 4 a

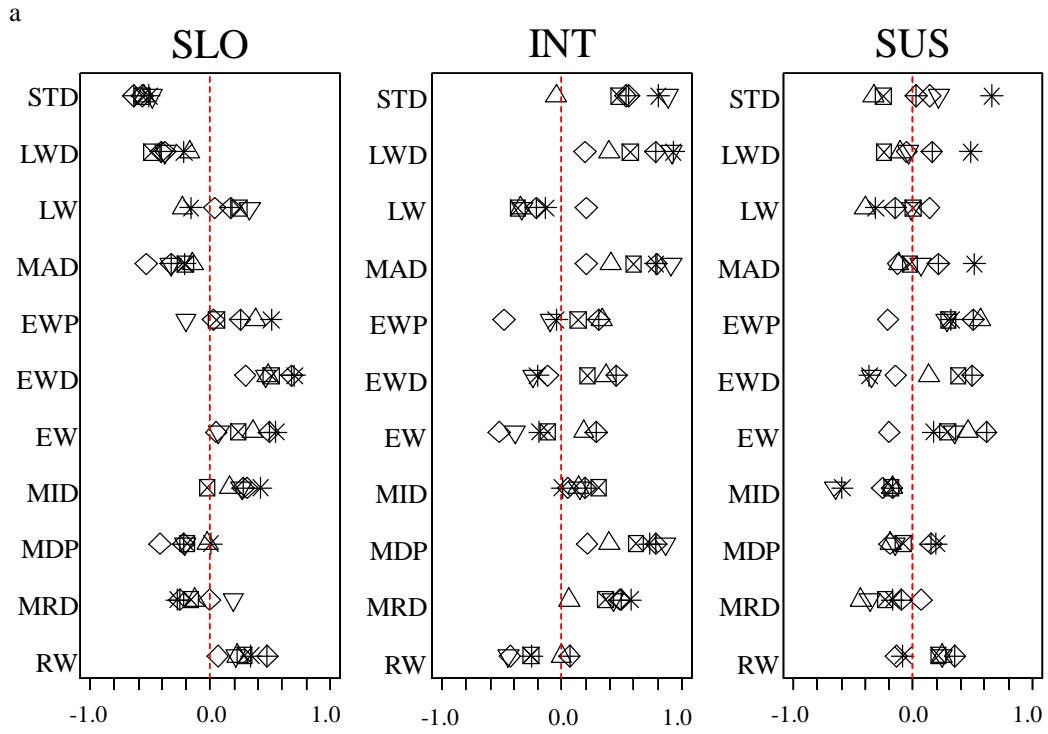
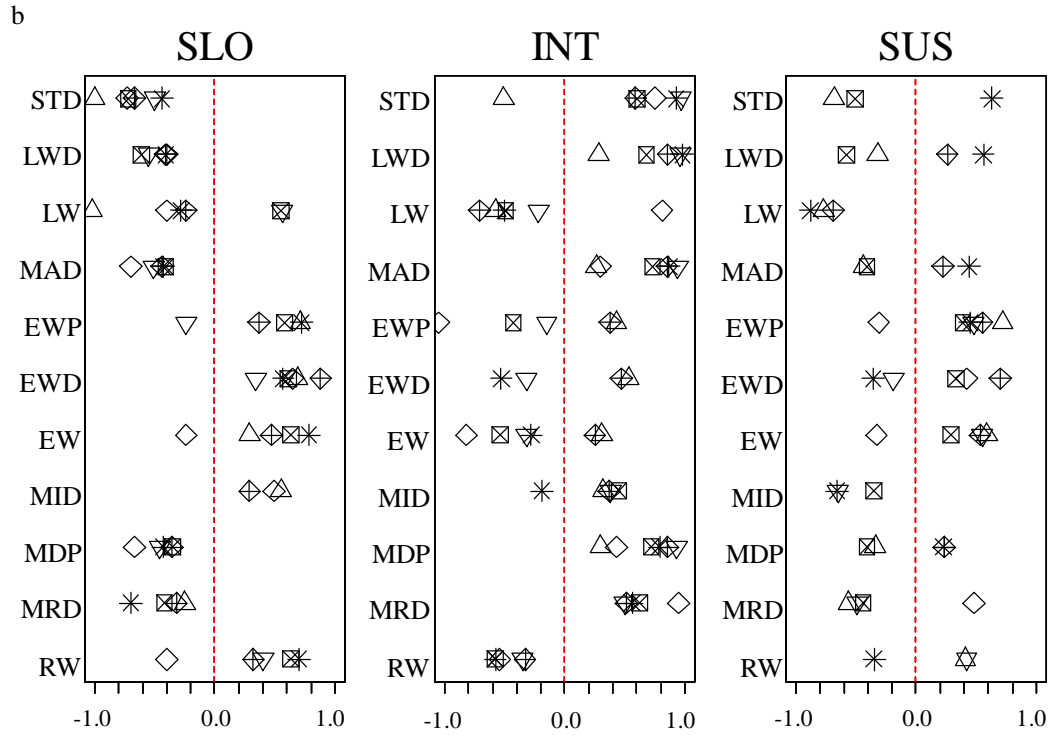


FIGURE 4 b



Discussion

1 Réponses fonctionnelles et physiologiques observées chez les arbres après la canicule de 2003.

La canicule de l'année 2003 a soumis les arbres à de forts ajustements fonctionnels et/ou physiologiques, notamment : la réduction de l'indice de surface foliaire (Bréda et al. 2006, Poyatos et al. 2007) ; la réduction de la conductivité stomatique, la réduction de l'activité photosynthétique et de l'assimilation de carbone (Haldimann et al. 2008) ; l'altération de la dynamique de l'absorption de l'eau ; l'arrêt de la croissance (Bréda et al. 2004, 2006, Nahm et al. 2005, Rennenberg et al. 2006, Granier et al. 2007). Ces ajustements permettent d'éviter une perte d'eau excessive produite par des déséquilibres hydriques entre la forte demande associée à la transpiration en vapeur des arbres et la faible disponibilité de la réserve hydrique des sols (Bréda et al. 2006, Hirschi et al. 2007). De cette manière, les arbres modifient leur architecture hydraulique, en se donnant la possibilité de s'ajuster à des conditions de sécheresse et chaleur (Tyree et Ewers 1991, Martinez-Vilalta et Piñol 2002, Mueller et al. 2004, Bréda et al. 2006). Si les conditions de stress hydrique se prolongent dans le temps, des processus irréversibles comme l'apparition d'une cavitation généralisée dans le xylème peuvent entraîner la mort des arbres (Sperry et Pockman 1993; Hacke et al. 2000, Bréda et al. 2006).

Nous avons étudié (Dalla-Salda et al. 2009) les propriétés hydrauliques du xylème : la conductivité hydraulique spécifique (k_s) et la résistance à la cavitation (plc_{50}) (point 4.1 et

4.2 de l'introduction) de trois (parmi neuf) clones communs aux trois tests clonaux utilisés dans cette thèse. L'échantillonnage des arbres a été fait dans deux des trois sites expérimentaux. Cette étude nous a permis de déterminer qu'à Chassenois (Nord-est du Massif Central, dans le Morvan), le site le plus fortement affecté du point de vue climatique (Martinez-Meier et al. 2008b, chapitre 2 de cette thèse), le douglas a vu sa conductivité hydraulique spécifique (k_s) pratiquement divisée par 100 par rapport à celle des mêmes clones à Lartimache (Sud-ouest du Massif Central, dans le Limousin), le site le moins affecté (Dalla-Salda et al. 2009). Cela suggère que la plupart des trachéides conductrices se sont trouvées cavitées suite à la canicule. L'hypothèse d'une cavitation généralisée dans la partie conductrice du tronc pourrait expliquer les dégâts étendus observés chez le douglas dans des conditions où la pluviométrie est déjà limitée et/ou les réserves utiles en eau dans les sols sont insuffisantes. Les branches se sont montrées plus résistantes à la cavitation que le tronc (Dalla-Salda et al. 2009). Donc l'apparition d'une mortalité apicale chez le douglas est certainement un signal très tardif de cavitation par stress hydrique du xylème. Ces différences de vulnérabilité à la cavitation entre branches et tronc ont été observées par d'autres auteurs qui ont rapporté des différences significatives à l'intérieur des arbres depuis les houppiers vers les racines chez le douglas (Kavanagh et al. 1999, Domec et Gartner 2001, Dunham et al. 2007). Les mêmes résultats ont été trouvés chez des espèces de climat méditerranéen (Martinez-Vilalta et al. 2002). Chez le douglas, le xylème a été décrit comme la portion aérienne la plus vulnérable à la

cavitation par stress hydrique et son fonctionnement est au bord du dysfonctionnement hydraulique vers la fin de la saison de végétation (Domec et Gartner 2002, 2003).

2 Le bois comme marqueur du potentiel d'adaptation des arbres au climat.

Le bois est un enregistrement temporel de l'activité cambiale pendant la saison de végétation (Larson 1963). Il permet d'interpréter les interactions des arbres avec leur environnement (Fritts 1976, Hughes 1980). Les réponses morphologiques des arbres comme l'enregistrement bois année après année dans les cernes ont une origine dans les réponses physiologiques, qui sont plus étroitement liées à une réponse adaptative. Dans le dispositif de provenances de douglas (chapitre 1), la mortalité partielle ou totale des houppiers a affecté 20 % des arbres (inventaire de santé des houppiers sur la totalité des arbres du dispositif). La plupart des 65 arbres que nous avons repérés sont morts en 2003 mais quelques autres (huit) sont morts en 2004 et six sont mort en 2005, avant la date de notre échantillonnage. Les arbres vivants ont une densité du tronc plus élevée. Dans la plupart des cernes étudiés la densité moyenne est plus élevée à cause d'une densité maximum, d'une densité moyenne et d'une proportion de bois final plus élevées (figure 8). Ces différences s'observent dans plusieurs cernes avant celui de la canicule, principalement dans les cernes les plus extérieurs de l'aubier, qui sont considérés les plus conducteurs de sève brute chez le douglas (figure 5 de l'article du chapitre 1) (Granier et al. 1994, Domec et Gartner 2001, Spicer et Gartner 2001).

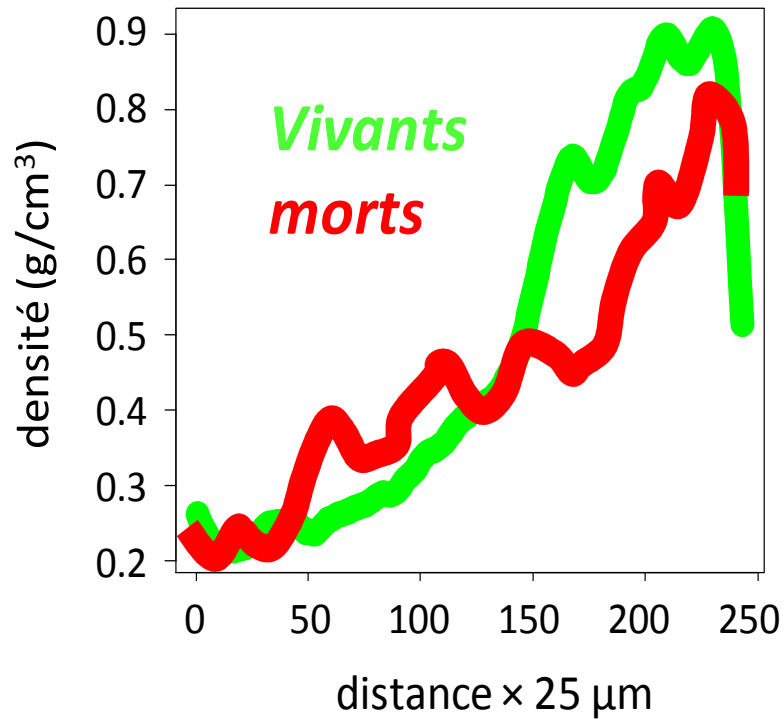


Figure 8 Les arbres vivants ont une largeur de cerne, une densité minimum de cerne et une densité de bois initial similaires aux arbres morts. Par contre, la densité moyenne du cerne, la densité maximum du cerne et la densité moyenne et proportion du bois final sont plus élevées chez les arbres vivants que chez les arbres morts. Ces différences sont plus marquées dans les derniers cernes.

Malheureusement, le dispositif a été éclairci deux fois et les effectifs par provenance fortement réduits. De ce fait, et contrairement à de nombreux auteurs (Bastien et al. 1985, Yassin Abdel-Gadir et Kraemer 1993a, 1993b, Schermann 1994, Rozenberg et al. 1997, 2001) nous n'avons pas mis en évidence de variations significatives des variables de

microdensité entre et à l'intérieur des provenances. Les 65 arbres morts échantillonnés correspondent à 60 provenances différentes. Il n'y a pas de différences significatives entre les provenances Françaises et Nord-Américaines en ce qui concerne des symptômes visibles d'affectation des houppiers (résultats obtenus à partir d'analyses de tableaux de contingence des deux groupes de provenances).

Le dispositif de douglas que nous avons étudié est sur terrain plat. La texture du sol est du sable grossier, reposant sur un horizon compact quasi imperméable ou argileux lourd. Ce sol présente des caractéristiques hydromorphes qui le rendent mal adapté au douglas, car limitant fortement la profondeur d'exploration des racines (Charnet et al. 1996, Curt et al. 2001). Les précipitations étant déjà limitées dans la région (table 1), cette station ne convient pas très bien au douglas. Des échantillonnages de sol nous ont permis de confirmer l'existence de variations de profondeur de la couche d'argile lourde qui pourraient être en relation avec la distribution des arbres morts dans le dispositif. L'argile est plus en surface dans le nord, nord-est de la parcelle où la mortalité des arbres a été plus marquée (figure 2 de l'article du chapitre 1).

De façon à particulièrement tenir compte de cette variation, l'échantillonnage et la comparaison des profils de microdensité entre arbres vivants et morts ont été réalisées entre paires d'arbres voisins (un arbre mort et son voisin vivant le plus proche), ce qui permet de contrôler les facteurs micro-environnementaux qui pourraient avoir influencé la réponse de l'arbre (figure 9).

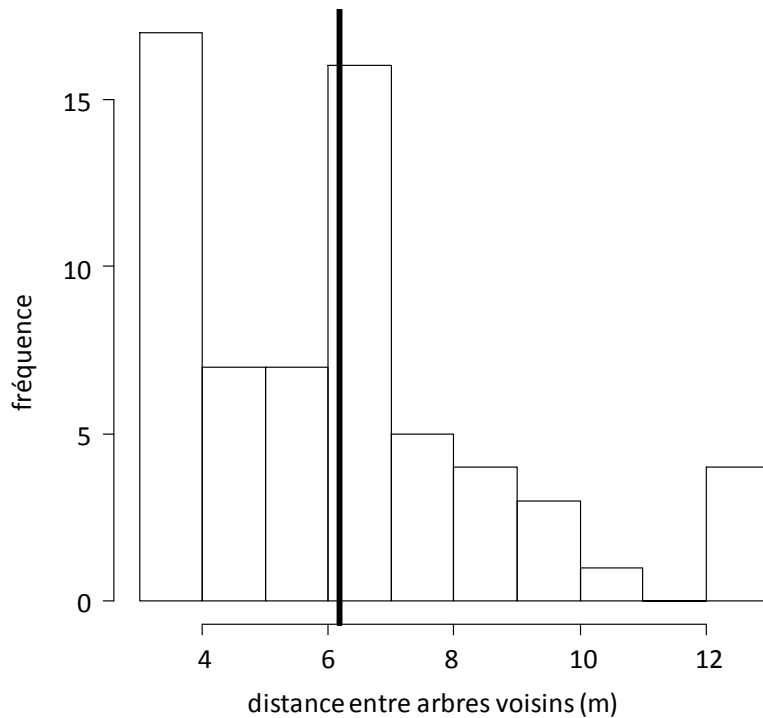


Figure 9 distributions de fréquences des distances entre arbres de chaque paire. La ligne noire verticale représente la médiane.

Chaque paire d'arbres partage les mêmes conditions physiques de croissance. Les différences significatives trouvées sont imputables à la réponse différentielle des arbres vivants et morts aux variations climatiques, c'est-à-dire à la façon selon laquelle un génotype donné réagit aux contraintes du milieu.

3 Variation génétique de la réponse à la canicule 2003 et de la dendroplasticité.

Il est bien connu que la baisse de la disponibilité en eau dans le sol et/ou les hautes températures affectent la croissance des arbres. La largeur du cerne et les composantes de la densité du bois, comme par exemple la proportion et la densité du bois initial et du bois final ont été amplement utilisées. Les études dendrochronologiques ont montré que ces caractères étaient importants pour mettre en évidence la relation entre la croissance des arbres et le climat (Douglass 1920, 1933, Fritts 1971, 1976). Le douglas a été aussi utilisé pour la reconstruction de climats passés (Cleaveland 1986, Watson et Luckmann 2002, Zhang et Hebda 2004, Gonzales-Elizondo et al. 2005). Les résultats du chapitre 2 (article 2), montrent que le douglas a été fortement affecté par la canicule 2003. Les symptômes sont associés à la façon dont la canicule s'est manifestée : entre fin juillet et début août (les premiers quinze jours) des températures extrêmement hautes et un déficit hydrique ont amplifié la sécheresse déjà marquée pendant la première partie de l'année principalement dans le centre et centre-ouest de l'Europe (Rebetez et al. 2006). L'indice climatique de De Martonne de l'année 2003 comparé avec l'indice climatique moyen dans les quatre sites expérimentaux (figure 10) montre que Chassenois et le dispositif de provenances de douglas d'Orléans diffèrent des deux autres sites, Lartimache et Sorèze, par des conditions climatiques plutôt défavorables au début de la saison de végétation qui se prolongent vers la fin. Le principal effet de la canicule a été une forte diminution du bilan hydrique du sol (Bréda et al. 2006, Granier et al. 2007). La texture du sol à Chassenois est plus sableuse qu'à Lartimache et qu'à Sorèze, ressemblant en cela à celle

du dispositif de comparaison de provenances d'Orléans : cela a certainement accentué la diminution des réserves hydriques du sol aggravant le stress des arbres.

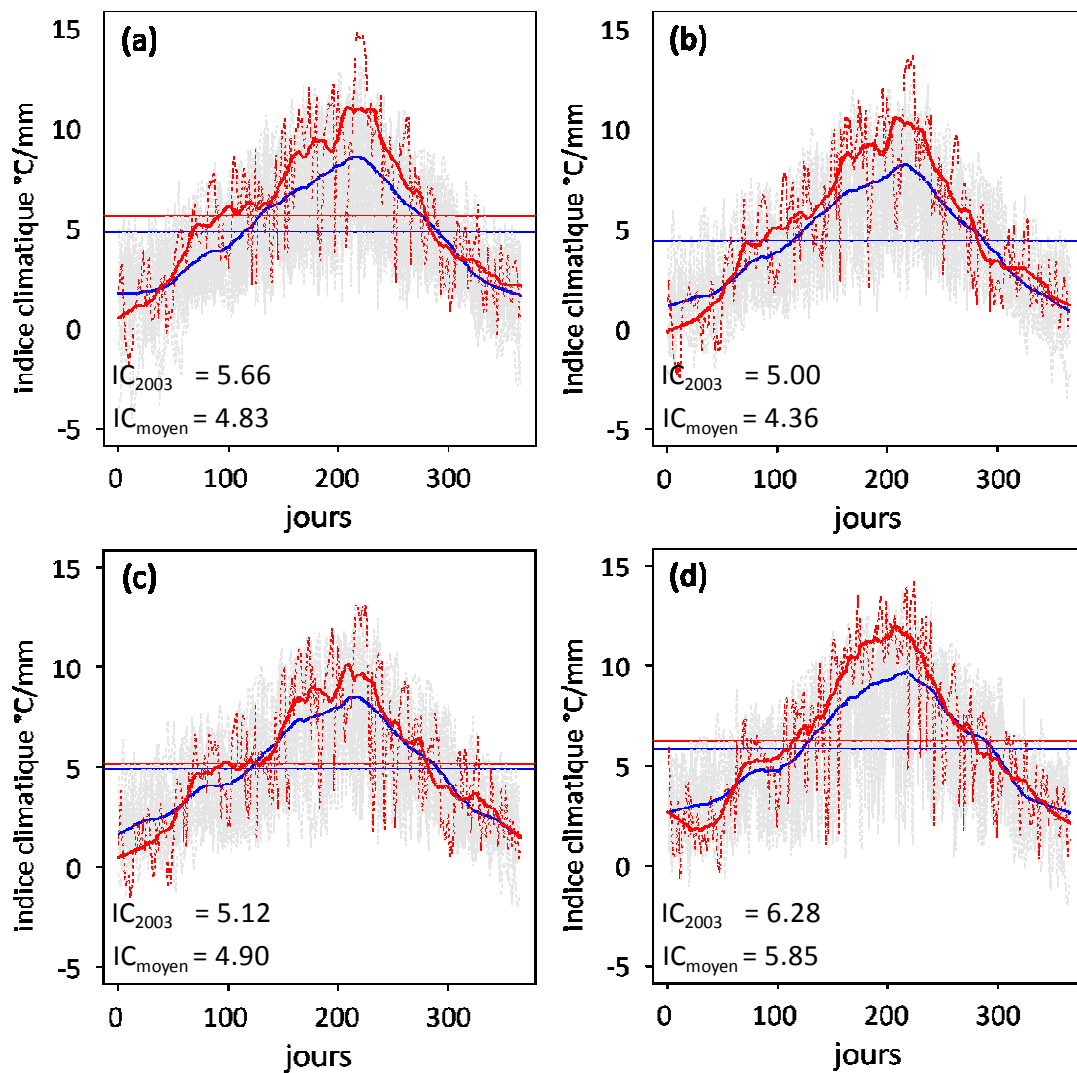


Figure 10 Variation de l'indice climatique 2003 et moyen pour la période 1986 – 2002 en forêt d'Orléans (a) et pour la période 1994 – 2002 à Chassenois (b), Lartimache (c) et Sorèze (d) (rouge : 2003, bleu : moyen) et leur variation absolue (rouge : 2003, gris :

moyen). La ligne horizontale rouge et bleu indique les valeurs de l'indice climatique 2003 et moyen pour la période considérée dans chaque étude.

À Chassennoix et en forêt d'Orléans, le cerne 2003 semble incomplet, avec du bois final manquant ou incomplet. Chez certains arbres vivants du dispositif de comparaison de provenances de la forêt d'Orléans, les cernes 2003 et 2004 sont si petits qu'il a été nécessaire de faire des images microscopiques pour les identifier (figure 11).

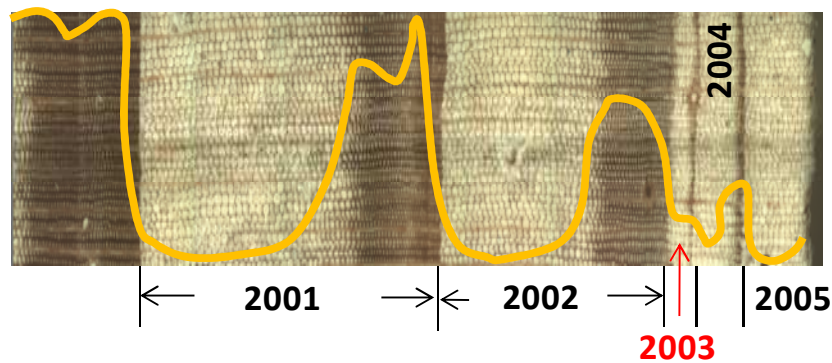


Figure 11 image microscopique et profil de microdensité superposés. Derniers cernes d'un arbre survivant montrant les cernes 2003 et 2004 incomplets à cause d'une croissance réduite et le dernier cerne 2005 incomplet à cause de la récolte de carottes en juin 2005.

Bower et al. (2005) ont démontré que face à des conditions climatiques qui dépassent une valeur seuil, le douglas est fortement affecté dans sa croissance, en produisant un cerne semblable à celui de l'année 2003. L'influence des hautes températures sur le

processus de formation du bois final a aussi été décrit chez le douglas par Robertson et Jozsa (1988) et Robertson et al. (1989). Kennedy (1961) démontre que les températures vers la fin de la station de végétation affectent fortement la formation du bois final. Corcuera et al. (2006) décrivent aussi chez le chêne tauzin (*Quercus pyrenaica*) des cernes incomplets, sans bois final lors de saisons de végétation xériques. Granier et al. (2007) écrivent que les conditions climatiques régnant durant l'année 2003 ont provoqué un débourrement anticipé en début de saison de végétation, mais aussi que l'arrêt de la croissance a été exceptionnellement précoce. La largeur de cerne et la formation du bois vers la fin de la saison de végétation sont de très bons indicateurs de conditions climatiques extrêmes (Schweingruber et al. 1979, Lebourgeois 2000, Rigling et al. 2001, Bouriaud et al. 2004, Skomarkova et al. 2006).

L'indice climatique standardisé de l'année 2003 à Chassennoix était de 2,51 (Dalla-Salda et al. 2009), caractéristique des conditions climatiques exceptionnelles de cette année là. Le douglas dans ce site a montré une croissance 2004 supérieure à celle de 2003 et comparable à celle de 2002 et des cernes précédents, ce qui montre sa capacité d'ajustement à des conditions climatiques extrêmes. Les variables appelées *différences* utilisées dans l'article 2 (chapitre 2) ont mesuré l'impact immédiat de la canicule 2003 et sa récupération ou son possible impact différé durant l'année 2004 et sont modérément hérissables. Ces résultats ont été interprétés comme des indices de l'existence d'une variation génétique pour la plasticité phénotypique. Ces valeurs d'héritabilité sont

similaires à celles trouvées pour les variables microdensitométriques. Ceci indique qu'il existerait, chez le douglas introduit en France, un potentiel adaptatif à court terme.

L'existence de variation génétique pour la densité du bois a été largement mise en évidence par nombreux auteurs (Zobel et van Buijtenen 1989, Cornelius 1994, Zobel et Sprague 1995). Des clones avec les mêmes taux de croissance et la même densité moyenne peuvent avoir une structure de cerne différente (Ivkovic et Rozenberg 2004). Toutefois, peu d'auteurs se sont intéressés à la variation génétique de la réponse des arbres au climat, en utilisant l'information enregistrée dans les cernes. Ainsi par exemple, Rozenberg et al. (2002, 2004) décrivent chez l'épicéa commun et le douglas la réponse des arbres à des événements climatiques de sécheresse et de hautes températures pendant la saison de végétation et montrent que cette réponse est héritable. Sanchez-Vargas et al. (2007) ont estimé des valeurs d'héritabilité pour la pente de la norme de réaction et des corrélations génétiques entre ce caractère et les variables de microdensité.

Le fait qu'un caractère donné d'un génotype donné mesuré dans deux sites différents puisse être considéré comme décrivant deux phénotypes différents a fait de la génétique quantitative un outil qui a contribué au développement de l'étude de la plasticité phénotypique (DeWitt et Scheiner 2004). L'existence de variation génétique pour la plasticité phénotypique a été inférée au travers de l'étude de l'interaction génotype environnement (Wu et Stettler 1998). Mais l'existence de cette interaction ne peut pas toujours être considérée comme une preuve de variation génétique de la plasticité phénotypique (Fry 1992 in Dewits et Scheiner 2004). Par contre, les normes de réactions

permettent de mesurer la variation individuelle du caractère d'un génotype en fonction d'une variation de l'environnement et les paramètres qui les décrivent peuvent être considérés comme des caractères quantitatifs. Dans les trois sites clonaux nous avons étudié la variation génétique de la dendroplasticité en calculant des normes de réaction individuelles (chapitre 3). Nous avons mesuré la dendroplasticité individuelle à l'aide de profils de microdensité en utilisant deux méthodes : une méthode simplifiée utilisant les ondelettes (résultats supplémentaires non publiés) et une méthode basée sur la définition de points de rupture et utilisant des cernes avec des faux-cernes. Les deux méthodologies que nous proposons ont des avantages et des désavantages. Toutes les deux utilisent la variation la plus importante de la densité du bois, c'est-à-dire la variation à l'intérieur du cerne. Cette variation peut être entièrement expliquée par le climat si les conditions de croissance ne changent pas au cours de la saison de végétation (par exemple, s'il n'y a pas eu d'élagage, d'éclaircie et/ou d'apport d'engrais). La méthodologie simplifiée utilisant les ondelettes permet de construire une norme de réaction dans n'importe quel cerne avec ou sans faux cerne. C'est une méthode facile à mettre en place, permettant aussi une interprétation facile de la variation de la densité du bois en fonction du climat. Par contre, une partie seulement de l'information contenue dans le cerne est utilisée. Une seule variable, la pente, mesure le taux d'augmentation de la densité du bois à l'intérieur du cerne en fonction de l'augmentation de l'indice climatique. L'autre méthode est par contre limitée aux cernes avec points de ruptures suffisamment nombreux. Elle utilise un modèle non-linéaire (article 3, chapitre 3) et a l'avantage de mieux décrire la dynamique

de la réponse des arbres au climat pendant la saison de végétation. Avec cet ajustement non-linéaire nous avons amélioré la méthodologie décrite par Sanchez-Vargas et al. (2007). Les modèles non-linéaires sont préférables quand les normes de réactions sont construites tout le long d'un gradient environnemental (David et al. 1997, Gibert et al. 2004, Valladares et al. 2007). Nous avons utilisé un seul indice climatique pour étudier les variations liées aux sites, c'est-à-dire la variation géographique de la dendroplasticité. À la différence de la méthode simplifiée basée sur les ondelettes, où la dendroplasticité est décrite par une seule variable, trois variables qui peuvent être biologiquement interprétées mesurent la réponse individuelle de l'arbre. Donc une interprétation plus complexe est nécessaire au moment d'évaluer la réponse des arbres aux variations du climat. Un compromis entre le modèle mathématique et la simplicité biologique de l'interprétation est nécessaire pour prendre en compte le meilleur modèle d'ajustement qui permet de décrire la norme de réaction (Gibert et al. 2004).

Dans la figure suivante (figure 12) nous présentons l'héritabilité au sens large de la largeur du cerne, de la densité moyenne du cerne, de la densité minimum et maximum du cerne et de la pente de la norme de réaction mesurées à partir des ondelettes dans les trois dispositifs clonaux (résultats non publiés).

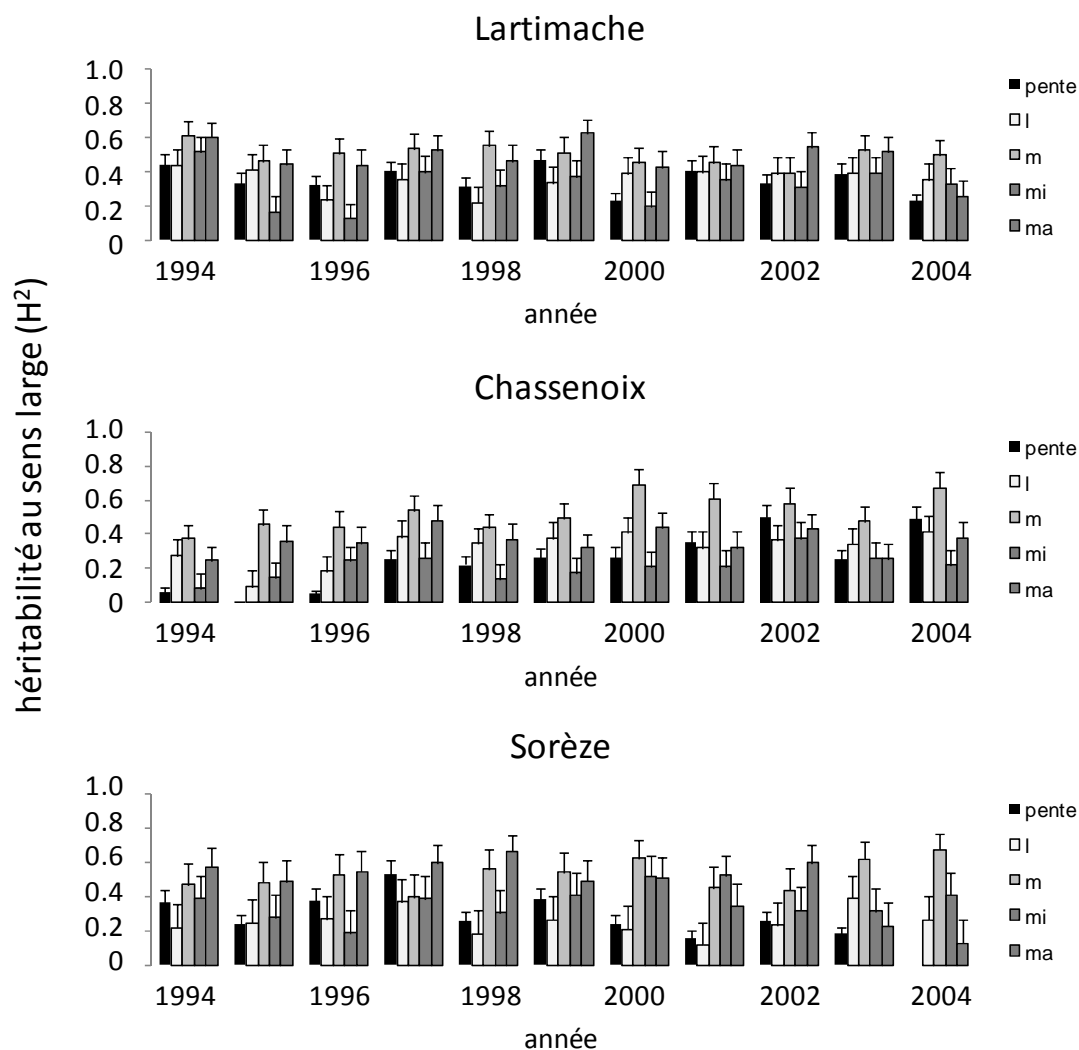


Figure 12 héritabilité au sens large (H^2) des variables de microdensité : largeur du cerne (l), densité moyenne du cerne (m), densité minimum du cerne (mi), densité maximum du cerne (ma) et pente de la norme de réaction (pente).

L'héritabilité de la pente de la norme de réaction est modérée, suivant plutôt les variations de la densité maximum du cerne, surtout à Lartimache et Chassenoix et est inférieure à l'héritabilité de la densité moyenne du cerne.

Dans le chapitre 3 nous démontrons l'existence de variation génétique pour les variables qui décrivent la norme de réaction (méthode utilisant les points de rupture dans le cerne). Dans la figure 13 nous présentons l'héritabilité des variables de microdensité et l'héritabilité des trois variables de dendroplasticité. En général, celles-ci sont fortement héritables, avec des variations entre sites et années, avec des valeurs proches et parfois supérieures à 0,7.

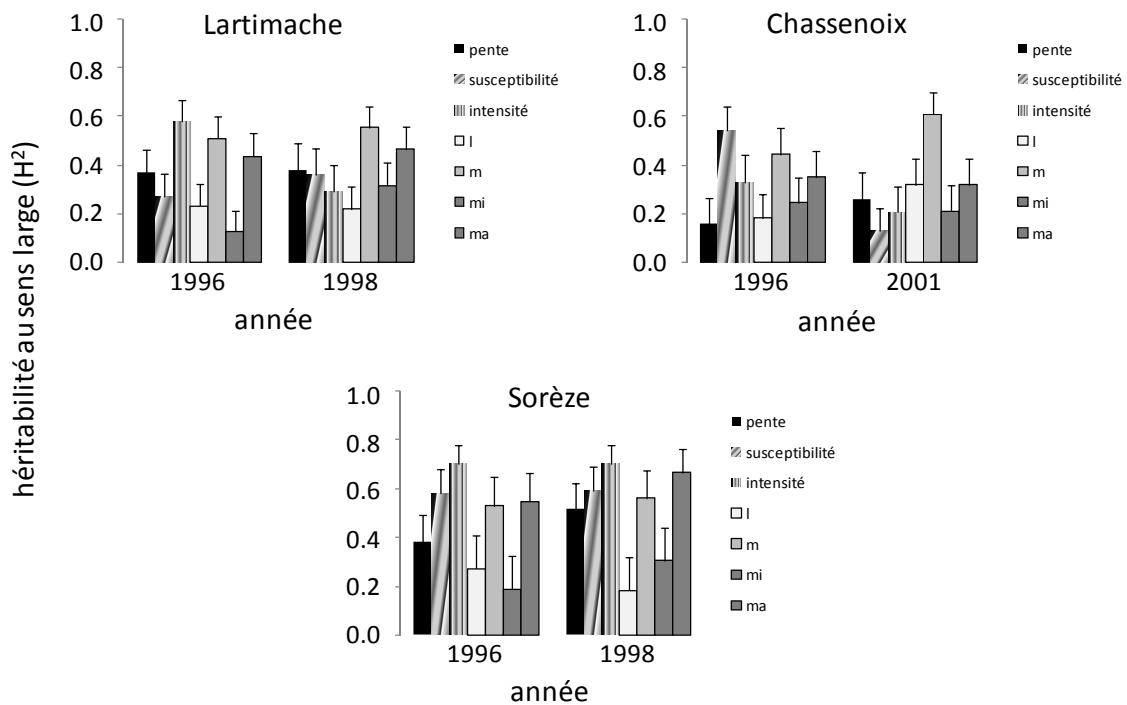


Figure 13 Héritabilité au sens large de la largeur du cerne (l), densité moyenne du cerne (m), densité minimum du cerne (mi) et densité maximum du cerne (ma), et des variables qui décrivent la dendroplasticité : pente, susceptibilité et intensité.

Il est intéressant de remarquer les différences entre méthodes de mesure de la dendroplasticité : d'une part, les pentes de la norme de réaction estimées par la méthode simplifiée utilisant les ondelettes et par la méthode des points de rupture de Sanchez-Vargas et al. (2007), d'autre part les variables estimées grâce à l'ajustement non-linéaire que nous proposons. Dans le premier cas la pente mesure le changement global de densité du bois, tandis que dans le deuxième cas, la pente représente le changement maximal de densité du bois en fonction de l'augmentation de l'indice climatique. C'est une représentation du passage abrupt d'un bois de caractéristiques anatomiques de type bois initial à un bois complètement différent, le bois final. L'héritabilité des variables qui décrivent la norme de réaction dans le chapitre 3 (l'article 3) va de modérée à élevée en restant comparable à celle des variables de microdensité (chapitre 3).

Notre étude est limitée par le fait que nous avons estimé des héritabilités au sens large. Or plusieurs auteurs ont montré que la variation génétique de la densité du bois a une composante additive importante chez le douglas (Bastien et al. 1985, King et al. 1988, Johnson et Jayawickrama 2002, Howe et al. 2006, Jonhson et Gartner 2006). Des résultats similaires ont été trouvés pour d'autres espèces comme le mélèze hybride (*Larix × eurolepis* Henry) par Pâques (2004), le pin radiata (*Pinus radiata* D. Don) par Wu et Matheson (2004) et le pin taeda (*Pinus taeda* L.) par Cumbie (2002). Si la plupart de la variation génétique observée dans cette étude pour les caractères de dendroplasticité correspond à la part additive, la dendroplasticité peut alors être sujette à sélection récurrente, en étant un caractère transmissible à la descendance par propagation sexuée.

Dans ce cas, la dendroplasticité pourrait être considérée comme une réponse évolutive à long terme, permettant aux nouvelles générations, sur la base de l'existence d'une diversité génétique suffisante pour s'adapter. Mais, peut-on espérer que la dendroplasticité ait une composante additive importante, seulement parce qu'elle est mesurée sur la base des caractères de densité du bois ? Et en plus, peut-on espérer que la réponse des descendants soit la même que la réponse des parents mesurée sous des conditions climatiques différentes ? Il est possible de donner des réponses concrètes à ces questions. Par exemple, en créant des dispositifs expérimentaux où il serait possible d'évaluer la descendance créée par des croisements contrôlés de parents assez contrastés pour les variables de dendroplasticité. De cette façon il sera possible de mesurer la portion additive et non additive de la variance génétique et l'évolution du caractère plasticité en lien avec les caractéristiques de leurs géniteurs.

La plasticité phénotypique joue aussi un rôle fondamental dans la capacité d'adaptation des individus dans le contexte du changement climatique. Non seulement parce que le changement climatique exerce une pression de sélection, mais aussi à cause de sa rapidité (Rehfeldt et al. 2002, St. Clair et Bowe 2007). Cette adaptation individuelle n'implique pas nécessairement un changement de la structure génétique. Si la variation environnementale dépasse un seuil, alors certains individus meurent alors que ceux qui se sont acclimatés survivent. Dans ce cas, la plasticité phénotypique est un processus évident d'adaptation individuelle à l'intérieur d'une population, qui pourra être ultérieurement

exploité par la sélection grâce à l'existence de variation génétique à l'intérieur de cette population.

Le modèle de comparaison morts - vivants du dispositif de provenances de douglas de la forêt d'Orléans nous fournit des informations sur l'importance de la plasticité phénotypique comme processus d'adaptation des populations d'arbres. Nous comparons les normes de réaction individuelles des deux groupes d'arbres, morts et vivants, en utilisant les deux méthodologies décrites précédemment (la méthode simplifiée basée sur les ondelettes et la modélisation non-linéaire utilisant les points de rupture et les faux-cernes) (résultats non publiés). En utilisant la méthodologie simplifiée basée sur les ondelettes, nous estimons la norme de réaction pour tous les cernes depuis 1986 jusqu'à 2002. En utilisant la méthodologie de modélisation non-linéaire des points de rupture, nous étudions les cernes 1992 et 2000, qui sont les seuls à contenir des faux cernes. Nous suivons ensuite la méthode de comparaison des arbres vivants et de leurs voisins morts décrite dans le chapitre 1. Les résultats montrent qu'avec la méthode simplifiée basée sur les ondelettes nous mettons en évidence une tendance vers une plus grande dendroplasticité chez les arbres vivants (figure 14a), significative pour les années 1990, 1995, 1998, 2000, 2001 et 2002. Quand nous estimons la dendroplasticité en utilisant les points de rupture, nous trouvons des différences significatives entre les arbres vivants et morts pour le cerne 2000 pour la variable *intensité* (figure 14b). Ces résultats renforcent l'hypothèse formulée précédemment, en particulier dans l'article 3, disant que la

dendroplasticité a bien une valeur adaptative car elle joue un rôle dans la résistance du douglas à la sécheresse.

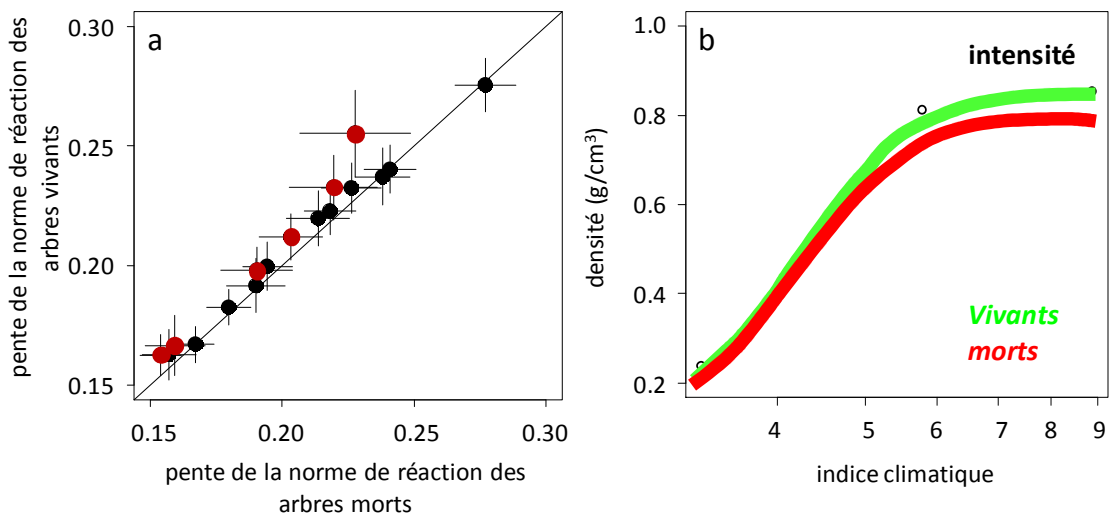


Figure 14 (a) valeurs moyennes (points noirs pour les différences non significatives et points rouge pour les différences significatives) et écarts-types de la pente de la norme de réaction des arbres vivants et arbres morts en utilisant la méthode simplifiée des ondelettes et (b) normes de réaction typiques des arbres vivants et arbres morts selon le modèle basé sur les points de rupture pour le cerne 2000.

Les cernes 1990 et 1995 sont marqués par une dendroplasticité significativement plus élevée chez les arbres vivants. Ces années sont sèches et chaudes. Chez le douglas des dépérissements ont déjà été constatés dans cette région et dans d'autres régions à faible réserve utile en eau, au début des années 1990, suite à une période de sécheresse (Charnet et al. 1996). Plusieurs auteurs écrivent que les effets d'un événement climatique

extrême de sécheresse peuvent se manifester de façon retardée (Borghetti et al. 1998, Martinez-Vilalta et Piñol 2002, Bréda et al. 2006, Granier et al. 2007). Les arbres soumis à des conditions réitérées de stress hydrique permanent n'auraient pas la possibilité de récupérer face à des événements successifs, affectant leur capacité de récupération et à exploiter les ressources. Ce manque de capacité de récupération se traduit principalement par une diminution de la croissance. Dépérissement et mortalité des arbres ont été observés lors des années suivant la canicule de 2003. Quelques arbres de notre échantillonnage sont morts soit en 2004, soit en 2005. Nos observations sur le dispositif de comparaison de provenances de la forêt d'Orléans vont jusqu'au moment de notre récolte d'échantillons entre avril et juin 2005. On a déjà démontré que, spécialement dans des sites pauvres où de longues périodes de sécheresse se succèdent, la mortalité de biomasse racinaire fine est très importante (Olsthoorn 1998, Curt et al. 1998), le potentiel de croissance racinaire étant plus sensible au stress hydrique que la croissance en hauteur et que la survie même (Tinus 1996). Des précipitations et/ou des températures subies pendant la saison de végétation précédente peuvent affecter les propriétés du bois et la croissance de l'année suivante (Lebourgeois 2000, Lebourgeois 2007, Sarris et al. 2007, Oberhuber et al. 2008). Nous avons trouvé des différences significatives de largeur de cerne entre les arbres vivants et morts uniquement pour 2000 et 2001 et pas pour le diamètre total des arbres. Martínez-Vilalta et Piñol (2002) n'ont pas non plus trouvé de différences significatives pour la croissance en diamètre chez le pin sylvestre (*Pinus*

sylvestris) entre des arbres qui ont survécu et arbres qui sont morts à la suite de sécheresses successives.

Est-ce qu'une dendroplasticité plus élevée lors des sécheresses des années 1990 et 1995 a contribué à une meilleure acclimatation des arbres survivants après la canicule de 2003, qui a été plus intense et plus durable encore que les sécheresses des années 90 ?

Une étude des corrélations entre années (résultats non publiés) montre que la réponse des arbres au climat lors de l'année 1990 est significative et modérément liée à la réponse de l'année 1995 ($r^2 = 0,47$ et $P < 0,05$). La relation entre la réponse des arbres au climat lors de l'année 1990 et les années suivantes est significative et diminue de 1996 vers 2001, mais augmente à nouveau en 2002. L'année 1995 conditionne de façon significative et assez fortement les réponses des années 1996, 1997 et 1999. La réponse lors des années 2000 et 2002 est significativement mais faiblement liée à la réponse de l'année 1995.

Table 3 Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) et probabilités associés (prob) des relations année-année pour la variable pente de la norme de réaction déterminée en utilisant la méthodologie simplifiée basée sur les ondelettes.

		Années						
		90-96	90-97	90-98	90-99	90-00	90-01	90-02
r^2		0,48	0,49	0,41	0,41	0,39	0,29	0,51
prob		***	***	***	***	***	**	***
		95-96	95-97	95-98	95-99	95-00	95-01	95-02
r^2		0,60	0,62	0,43	0,64	0,46	0,38	0,40
prob		***	***	***	***	***	***	***

Probabilité : < 0,001***, entre 0,001 et 0,01 **, entre 0,01 et 0,05* et entre 0,05 et 0,1

ns.

Les années précédant la canicule 2003 ont été des années favorables du point de vue climatique. Les arbres vivants montrent des différences significatives claires avec les arbres morts durant ces années. La sélection naturelle a agi en faveur des arbres avec une plasticité supérieure, déjà constatée dans les années 90. Cependant cette réponse semble avoir peu d'effet sur leur survie postérieure. Dans ce modèle de comparaison morts-vivants, la sélection naturelle ne semble pas agir sur une valeur ponctuelle de dendroplasticité ou sur une densité plus élevée dans un seul cerne, mais plutôt sur plusieurs cernes. Nous l'avons constaté sur une série d'années précédant la canicule 2003. Une plus grande dendroplasticité chez le douglas est en relation avec une plus grande capacité à produire du bois de haute densité vers la fin de la saison de végétation (chapitre 1 et chapitre 3). Une plus grande proportion de bois final de densité plus élevée peut aider l'arbre à maintenir un niveau minimal de conductivité pendant plus longtemps, ce qui pourrait permettre de maintenir l'intégrité du système hydraulique quand le bois initial devient non conducteur lors de sécheresses extrêmes (Waring et Running 1978, Loustau et al. 1996, Domec et Gartner 2002, Domec et al. 2005, Cermak et al. 2006, Verbeeck et al. 2007). Cette relation bois final/bois initial est décrite par plusieurs auteurs comme étant d'importance adaptative (Waring et Running 1978, Domec et Gartner 2002). Elle permettrait au douglas de pousser dans des conditions humides pendant le printemps et sèches pendant l'été. Par ailleurs, la résistance à la cavitation est une propriété intrinsèque du xylème (Cochard 2006, Dalla-Salda et al. 2009). Plusieurs auteurs ont

démontré que la résistance à la cavitation est étroitement liée aux propriétés des ponctuations (Hacke et al. 2004, Domec et al. 2006, Pittermann et al. 2006a), mais aussi aux dimensions des trachéides : le xylème formé de cellules à parois plus épaisses et/ou avec des diamètres de lumens plus petits serait à la fois plus résistant à la cavitation et plus dense (Tyree et al. 1994, Stratton et al. 2000, Hacke et al. 2001, Cruziat et al. 2002, Bucci et al. 2004). La microdensité du bois est alors étroitement liée aux propriétés anatomiques du bois qui sont elles-mêmes liées aux propriétés hydrauliques. La production de bois de plus grande densité vers la fin de la saison de végétation correspond à la fois à une dendroplasticité plus élevée et à une meilleure résistance à la cavitation.

4 Validation des profils de microdensité pour la sélection des géotypes mieux adaptés aux contraintes hydriques du milieu.

La sélection indirecte d'arbres plus résistants à la cavitation est donc envisageable à partir de l'exploration des relations entre propriétés hydrauliques du xylème et microdensité du bois. Nous avons validé partiellement cette hypothèse dans un article qui montre que le clone le plus résistant à la cavitation après la canicule 2003 avait la densité la plus élevée (Dalla-Salda et al. 2009). Nous avons étendu notre échantillonnage à sept autres clones de douglas récoltés à l'INRA d'Orléans, en suivant la méthodologie décrite dans l'introduction (point 4) et par Dalla-Salda et al. (2009). Une analyse en composantes principales (ACP) (résultats complémentaires non publiés) montre sur les deux premières

composantes principales la relation au niveau arbre entre propriétés hydrauliques (point 4 de l'introduction) et microdensité (point 3 de l'introduction).

La densité minimum du cerne est éliminée de l'analyse car très corrélée avec *seq* et *dbi*. La densité maximum du cerne a été aussi éliminée car fortement corrélée avec la densité du bois final. Les arbres et les variables ont été représentés sur le plan défini par les deux premières composantes principales de l'ACP (figure 15). Ces plans (axe 1 et axe 2) expliquent 67,73 % de la variation inter-arbres observée (axe 1 = 44,55 % et axe 2 = 23,18 %).

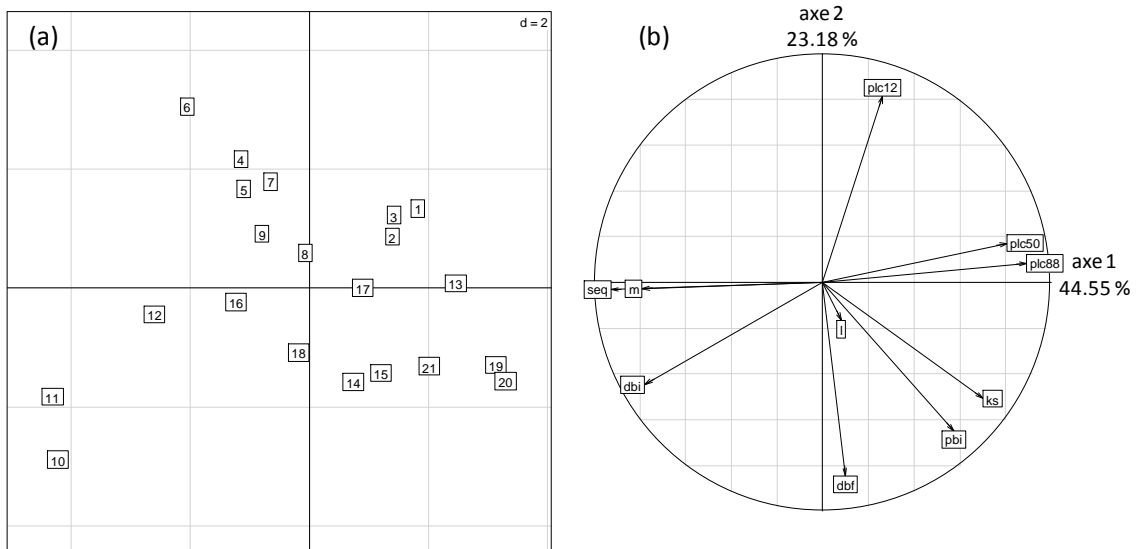


Figure 15 distributions des variables et des individus dans le plan défini par les composantes principales 1 et 2 de l'ACP.

L'axe 1 de l'ACP est clairement expliqué par la relation positive entre la résistance à la cavitation du xylème mesurée par *plc50* et *plc88* et la densité moyenne du cerne (*m*) et

surtout par la densité moyenne des 100 premières valeurs de densité du cerne (*seq*). La corrélation a un signe négatif. Il faut l'interpréter par la relation exprimée selon les unités de mesure. La résistance à la cavitation est exprimée en unités de pression négatives : un arbre plus résistant à la cavitation possède une valeur de pression plus négative. Donc la résistance à la perte de 50 % de conductivité ou à la cavitation irréversible (*plc88*) dépendent principalement d'une densité moyenne du cerne, d'une densité moyenne de *seq* et d'une densité du bois initial plus élevées. La conductivité hydraulique spécifique est liée positivement avec la proportion de bois initial et négativement avec *seq*. L'axe 2 est expliqué par une relation positive entre *plc12* et la densité de bois final. La résistance du xylème à l'entrée de bulles d'air dans le système conducteur est en relation avec une densité moyenne de bois final plus élevée. Il est intéressant de rappeler que nous avons montré que les arbres vivants du dispositif de comparaison de provenances de la forêt d'Orléans ont une plus grande proportion de bois final de plus haute densité. Par contre, il n'y a pas de relation entre *plc12* et les variables de microdensité du bois initial. Cela pourrait être expliqué par le rôle que jouent les ponctuations dans le contrôle de l'entrée de l'air dans les trachéides. Comment expliquer cette relation ? De nouvelles études sont nécessaires pour mettre en relation des profils de microdensité du bois et des profils anatomiques au niveau cerne en prenant en compte non seulement les diamètres des lumens et l'épaisseur des parois mais aussi de nouvelles variables comme la largeur des trachéides et la taille, la densité et la distribution des ponctuations. Il est impossible de mesurer de façon directe d'éventuelles différences entre un arbre vivant et un arbre mort

pour les propriétés hydrauliques du xylème. Est-ce que les arbres qui ont survécu ont des caractéristiques anatomiques qui pourraient expliquer une plus grande résistance du xylème à l'aspiration de bulles d'air dans le système conducteur ? Des différences significatives pour des caractères anatomiques du bois pourraient permettre de comprendre la capacité d'adaptation du douglas aux contraintes hydriques.

Conclusions

Nous avons démontré qu'il est possible de prédire la sensibilité aux événements climatiques extrêmes sur la base des profils de microdensité. La densité du bois a un impact sur la valeur adaptative (fitness), en permettant donc d'étudier l'adaptation des arbres au changement climatique. Les douglas qui ont survécu à la canicule 2003 sont des arbres avec une densité du bois significativement supérieure aux arbres qui sont morts. Cette différence s'est manifestée plusieurs années avant la canicule, principalement dans une portion du xylème impliquée dans la conduction de l'eau dans le tronc. Par ailleurs, nous avons vérifié que la densité du bois est bien impliquée dans la résistance à la sécheresse au travers des relations avec les propriétés hydrauliques du xylème. Cela réaffirme le rôle adaptatif de la densité du bois, laquelle peut être soumise à sélection et peut permettre au douglas d'évoluer vers une meilleure résistance à la cavitation. La densité du bois peut être considérée comme un outil du programme d'amélioration génétique de douglas pour la sélection de génotypes plus tolérants à la sécheresse.

Le douglas semble avoir été suffisamment plastique pour s'acclimater à la sécheresse et à la canicule et récupérer en 2004 une croissance proche, au moins, de celle de 2002. Les conditions climatiques extrêmes de 2003 semblent avoir diminué la durée de la saison de végétation. Le processus de formation du bois s'est arrêté précocement. Le cerne 2003 dans le site le plus fortement affecté par la canicule est incomplet, sans formation de bois final ou avec du bois final incomplet. Le potentiel génétique, démontré par le niveau

d'héritabilité de la réponse à cet événement, lui donne également un potentiel évolutif qui pourrait être utilisé en multi-génération à plus long terme.

L'enregistrement de l'activité cambiale comme lecture de la réponse des arbres aux variations du climat peut être utilisé pour construire des normes de réaction et mesurer la plasticité phénotypique, que nous appelons dendroplasticité. Nous démontrons que la dendroplasticité est héritable et, par conséquent, répond à la sélection. La valeur d'héritabilité est variable et se rapproche de celle des variables de microdensité.

Dans un scénario de changement climatique, la plasticité phénotypique constitue un mécanisme d'adaptation qui peut être soumis à une pression de sélection directionnelle. Les génotypes avec une réaction favorable persistent tandis que les autres s'éteignent. Ce mécanisme produit des organismes flexibles qui répondent à des changements environnementaux avec des changements phénotypiques bénéfiques. Une dendroplasticité plus élevée chez le douglas améliore sa résistance à la sécheresse et son aptitude relative à la survie. Le douglas pourra adapter sa structure génétique, laquelle lui permettra de survivre dans les générations suivantes.

Non seulement la variation génétique d'un caractère mais aussi la facilité pour le mesurer sont des propriétés qui doivent être prises en compte au moment de définir quel caractère peut-être considéré dans un programme d'amélioration génétique. La variabilité génétique de la réponse face aux contraintes du milieu décrite dans cette étude mérite d'être explorée dans le cadre du programme d'amélioration génétique du douglas en France. En ce sens, nous affirmons qu'il est possible d'utiliser les profils de microdensité

comme mesure indirecte des propriétés hydrauliques parce qu'il y a des relations entre les variables de microdensité et les variables hydrauliques du xylème plus étroitement liées à l'adaptation de l'arbre à la sécheresse. Il reste cependant à tester comment une plus grande dendroplasticité influence les propriétés hydrauliques du xylème, pour comprendre quelles sont les implications sur la capacité de survie des individus, sur leur plasticité physiologique et par conséquent sur leur potentiel d'adaptation.

Les profils de microdensité sont un outil idéal pour la description de la variation de la densité du bois considérée comme un enregistrement de l'activité cambiale en réponse aux variations de l'environnement. Cependant, un des principaux inconvénients des profils de microdensité est qu'ils sont exprimés en fonction de la distance et non du temps. Il est nécessaire de valider les méthodologies de synchronisation indirecte proposées dans cette étude à l'aide de méthodologies de synchronisation directe, en prenant en compte par exemple la phénologie de la formation de bois. La méthodologie des ondelettes est une méthode facile à maîtriser, et mérite donc d'être plus explorée. La méthode de synchronisation utilisant l'ajustement non-linéaire type Boltzmann est limitée aux cernes avec des faux cernes. De nouvelles méthodes plus raffinées de synchronisation devront être essayées, qui permettront de transformer des profils statiques en profils dynamiques et permettront de mieux comprendre la dynamique de la réponse des arbres aux variations du climat pendant la saison de végétation.

Perspectives

Extrapolation de l'étude. D'autres environnements et d'autres espèces.

La région des forêts « Sub-Andinos Patagónicos » a souffert durant ces dernières décennies d'une variabilité marquée des conditions climatiques. Ces événements, semblables à ceux qui sont étudiés dans cette thèse, ont affecté des arbres tant de populations naturelles que de plantations. L'espèce exotique la plus fortement affectée en Patagonie par une canicule qui a eu lieu durant l'été 1999, semblable à celle de 2003 en Europe, était aussi le douglas. Les mêmes symptômes, associés également à un mauvais choix de station forestière, ont été décrits. Comme en France, des arbres sont morts et d'autres ont survécu. Les profils de microdensité pourront servir à tester la réponse différentielle des arbres à la canicule qui a eu lieu en Argentine. Ceci permettra de comparer la réponse adaptative de douglas se développant sous des conditions climatiques et à des âges différents de ceux déjà étudiés en France, et complèterait l'étude présentée dans cette thèse.

Par ailleurs, la Patagonie présente des caractéristiques climatiques particulières qui en font un véritable laboratoire d'essai pour étudier la réponse des arbres au climat. Par exemple les vents dominants proviennent de l'océan Pacifique, en produisant un fort gradient de précipitation ouest-est. En moins de 50 km, il est possible de trouver un gradient de précipitation supérieur à 2000 mm. Dans ce contexte, le cyprès de la cordillère (*Austrocedrus chilensis* (D.Don) Pic.Serm. & Bizzarri), un conifère autochtone produisant

un bois très apprécié, est capable de se développer dès 3000 mm de précipitation à l'ouest, jusqu'à 330 mm vers l'est (Pastorino et Gallo 2002). Les fortes variations environnementales, avec la présence d'espèces forestières qui paraissent être extrêmement plastiques, font de ces écosystèmes un modèle unique pour l'étude des réponses adaptatives des arbres au climat à partir de l'utilisation des profils de microdensité du bois. Cette situation est très intéressante pour étudier le degré de plasticité phénotypique que présentent les arbres de populations différentes se développant dans des environnements différents. D'autre part, le cyprès de la cordillère est une espèce longévive ce qui nous permet d'étudier la plasticité de la réponse sur un grand nombre d'années. Cette espèce peut aussi nous permettre d'étudier l'influence des variations climatiques sur des populations marginales.

Une autre ligne de travail utilisant toujours les profils de microdensité du bois consiste à travailler sur des gradients altitudinaux. Ces gradients sont des modèles de fort changement climatique : on y observe des variations de température similaires à celles prédites pour le changement climatique global. La région Patagonie possède des gradients altitudinaux, où différentes espèces de *Nothofagus* (toutes des espèces autochtones) se succèdent en occupant des niveaux altitudinaux clairement définis. L'étude de ces gradients montagnards permettrait d'expliquer comment ces variations ont modelé dans le passé la distribution spatiale adaptative des arbres. A partir d'un échantillonnage dans les zones de contact entre espèces nous pourrions étudier la réponse différentielle des espèces à des variations communes de l'environnement. La réponse individuelle dans ces

zones permettra d'étudier comment les espèces pourraient se développer aux différentes altitudes en fonction de l'évolution du climat futur. Des équipes de travail multidisciplinaires sont nécessaires pour mettre en place des études liées à la compréhension des interactions entre organismes qui joueront un rôle dans la dynamique des populations pour s'adapter au changement climatique.

Incorporation des profils de microdensité dans la stratégie de sélection d'arbres *plus* en Argentine.

L'Argentine a vu sa surface de forêts réduite de 100 millions d'ha à 33 millions d'ha dans les dernières 100 années à cause de l'exploitation des forêts et de l'extension de l'activité agricole. L'INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) a identifié au niveau national quatre genres autochtones (*Cordia*, *Nothofagus*, *Cedrela* et *Prosopis*) dans trois régions d'Argentine, produisant des bois de grande valeur. Ces espèces sont de croissance relativement rapide et ne concurrencent pas, par leurs demandes écologiques, les espèces à croissance rapide habituellement utilisées en Argentine mais de moindre valeur commerciale (Gallo « Domesticación y mejora genética de especies forestales nativas con aptitud comercial » 2005). Le programme d'amélioration génétique avec des objectifs à long terme prévoit la sélection d'individus « plus » qui constitueront la population base de chaque programme de domestication, sur la base de critères de sélection qui dépendront de la région et de l'espèce. Ces caractères ont été résumés de la façon suivante : 1) morphométriques 2) physiologiques 3) d'adaptation aux contraintes

biotiques et abiotiques. Dans ce contexte, il est proposé d'intégrer plusieurs critères de sélection pour l'évaluation de la réponse individuelle des arbres aux variations environnementales, à travers l'utilisation des profils de microdensité. L'objectif sera d'évaluer la performance des arbres « plus », en déterminant le degré de supériorité à partir de la méthode d'arbre de comparaison (White et al. 2008). Ceci nous permettra de répondre à des critères morphologiques, physiologiques (à déterminer par la relation entre les variables de microdensité, anatomiques et hydrauliques) et d'adaptation au milieu à partir de l'étude de la réponse différentielle aux variations temporelles du climat. On espère que cette réponse variera entre les arbres en fonction du potentiel génétique. D'autre part, nous voudrions, à partir de techniques modernes de marqueurs ADN, établir les relations d'apparentement entre arbres voisins, qui seront utilisés pour l'évaluation des arbres « plus ». Ceci nous permettra d'incorporer l'information génétique dans la sélection d'individus, dans le but de séparer les sources de variation génétique et non génétique. Cette étude complémentaire à l'utilisation des profils de densité sera proposée pour une aire « pilote », la région Patagonie, dans le but de comparer l'efficacité de la méthode. L'utilisation du modèle mixte animal qui permet d'estimer la valeur des arbres « plus », permettra d'estimer la valeur d'amélioration de chaque arbre à partir de la structure parentale déterminée dans la population naturelle. Des techniques d'ajustement autorégressives, et des méthodes qui tiennent compte de la concurrence entre voisins permettront d'identifier et de séparer les variations environnementales, en rendant plus efficace la sélection à partir du mérite génétique. L'efficacité de sélection pourra être

testée à partir de la comparaison du classement obtenu avec un modèle réduit qui ne considère pas la structure génétique de la population et par l'évaluation de la descendance des arbres « plus » en pépinière.

Références bibliographiques

- Aldrich, E., 2007. Wavelets: A Package of Functions for Computing Wavelet Filters, Wavelet Transforms and Multiresolution Analyses. R package version 0.2-2, URL <http://www.atmos.washington.edu/~ealdrich/wavelets/>
- Anekonda, T., Lomas, M., Adams, W., Kavanagh, K., Aitken S., 2002. Genetic variation in drought hardiness of coastal Douglas-fir seedlings from British Columbia. *Canadian Journal of Forest Research* 32:1701-1716.
- Angelier, A., 2007. *Douglasaies françaises*. Office national des forêts, 296 pages.
- Bastien, J-C., Roman-Amat, G., Vonnet G., 1985. Natural variability of some wood quality traits of coastal douglas fir in a french progeny test. Implications on breeding strategy. IUFRO S2.02.05-W.P. Meeting in Vienna, Austria, June 1985.
- Battaglia, M., Cherry, M.L., Beadle, C.L., Sands, P.J., Hingston, A., 1998. Prediction of leaf area index in eucalypt plantations: effects of water stress and temperature. *Tree Physiology* 18: 521–528.
- Beedlow, P., Tingey, D., Waschmann, R., Phillips, L., Johnson, M., 2007. Bole water content shows little seasonal variation in century-old Douglas-fir trees. *Tree Physiology* 27: 737-747.
- Belrose, V., Nageleisen, L., Renaud, J., 2004. Les conséquences de la canicule et de la sécheresse sur la santé des forêts : bilan à la fin de l'année 2003, Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et de la Ruralité, Département de la Santé

- des Forêts, http://www.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/canicule_secheresse.pdf : 16 p.
- Beniston, M., 2003. Climatic change in mountain regions : a review of possible impacts. *Climatic Change* 59: 5-31.
- Bessemoulin, P., Bourdette, N., Courtier, P., Manach, J., 2004. La canicule d'août 2003 en France et en Europe. *La Météorologie* 46: 25-33.
- Borghetti, M., Cinnirella, S., Magnani, F., Saracino, A., 1998. Impact of long-term drought on xylem embolism and growth in *Pinus halepensis* Mill. *Trees* 12: 187-195.
- Bouriaud, O., Bréda, N., Le Moguedec, G., Nepveu, G., 2004. Modelling variability of wood density in beech as affected by ring age, radial growth and climate. *Trees* 18: 294–276.
- Bower, A., Adams, T., Birkes, D., Nalle, D., 2005. Response of annual growth ring components to soil moisture deficit in young, plantation-grown Douglas-fir in coastal British Columbia. *Canadian Journal of Forest Research* 35: 2491-2499.
- Bower, A.D., Aitken, S., 2008. Ecological genetics and seed transfer guidelines for *Pinus albicaulis* (Pinaceae). *American Journal of Botany* 95(1): 66–76.
- Bradshaw, A.D., 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* 13: 115-155.
- Bradshaw, A.D., Hardwick, K., 1989. Evolution and stress-genotypic components. *Biological Journal of the Linnean Society* 37: 137-155.

- Bréda, N., Granier, A., Aussenac, G., 2004. La sécheresse de 2003 dans le contexte climatique des 54 dernières années: analyse écophysiological et influence sur les arbres forestiers. *Revue Forestière Française* 56: 109-131.
- Bréda, N., Huc, R., Granier, A., Dreyer, E., 2006. Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annales of Forest Science* 63: 625-644.
- Bucci, S., Goldstein, G., Meinzer, F., Scholz, F., Franco, A., Bustamante, M., 2004. Functional convergence in hydraulic architecture and water relations of tropical savanna trees: from leaf to whole plant. *Tree Physiology* 24: 891-899.
- Burdon, R., Miller, J., Knowles, F., 1994. Introduced Forest Trees in New Zealand. Recognition, Role and Seed Source. 14 Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco). Forest Research Institute, Bulletin Nro. 124, 38 pages.
- Campbell, R., Sugano, A., 1975. Phenology of bud burst in Douglas fir related to provenance, photoperiod, chilling and flushing temperature. *Botanical Gazette* 136 (3): 290-298.
- Carlquist, S., 1985. Vasicentric tracheid as a drought survival mechanism. *Aliso* 11, 37-68.
- Cermak, J., Kucera, J., Bauerle, W., Phillips, N., Hinckley, T., 2007. Tree water storage and its diurnal dynamics related to sap flow and changes in stem volume in old-growth Douglas-fir trees. *Tree Physiology* 27 (2): 181-198.
- Charnet, F., 1999. Douglas et stress hydrique. *Forêt Entreprise* 127: 41-44.

- Charnet, F., Paillassa, E., Dume, G., 1996. Etude des dommages causés par les sécheresses de 1989, 1990 et 1991 aux peuplements de douglas dans le centre-ouest. Institut pour le développement forestier, 39 pages.
- Chmielewski, F., Muller, A., Bruns, E., 2004. Climate changes and trends in phenology of fruit trees and field crops in Germany 1961 – 200. *Agricultural and Forest Meteorology* 121: 69-78.
- Christophe, C., Birot, Y., 1983. Genetic structures and expected genetic gains from multitrait selection in wild populations of Douglas-fir and Sitka-spruce II. Practical application of index selection on several populations. *Silvae Genetica* 32: 173-181.
- Chuine, I., Yiou, P., Viovy, N., Seguin, B., Daux, V., Le Roy Ladurie, E., 2004. Historical phenology: Grape ripening as a past climate indicator. *Nature* 432, 289-290.
- Cleaveland, M. K., 1986. Climatic response of densitometric properties in semiarid site tree rings. *Tree-Ring Bulletin* 46: 13–29.
- Cochard, H., 1992. Vulnerability of several conifers to air embolism. *Tree Physiology* 11: 73-83.
- Cochard, H., Peiffer, M., Le Gall, K., Granier, A., 1997. Developmental control of xylem hydraulic resistances and vulnerability to embolism in *Fraxinus excelsior* L. impacts on water relation. *Journal of Experimental Botany* 48: 655-663.
- Cochard, H., 2002. A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures. *Plant, Cell and Environment* 25: 815–819.

Cochard, H., 2006. Cavitation in trees. *Comptes rendus Physique. Académie des sciences, Paris*. 7: 1018–1026.

COPA-COGECA 2003. Assessment of the impact of the heat wave and drought of the summer 2003 on agriculture and forestry. http://www.meteo.uni-koeln.de/content/forschung/klimadiagnose/summerheat2003/pocc_03_78i4_1e.pdf : 6 pages.

Corcuera, L., Camarero, J., Sisó, S., Gil-Peigrín, E., 2006. Radial-growth and wood-anatomical changes in overaged *Quercus pyrenaica* coppice stands: functional responses in a new Mediterranean landscape. *Trees* 20: 91-98

Cornelius, J., 1994. Heritabilities and additive genetic coefficients of variation in forest trees. *Can. J. For. Res.* 24: 372-379.

Creber, G.T., 1977. Tree rings: a natural data-storage system. *Biological Reviews* 52: 349-383.

Cruziat, P., Cochard, H., Améglio, T., 2002. The hydraulic architecture of trees: an introduction. *Annals of Forest Science* 59: 723-752.

Cumbie, W.P., 2002. Variation of wood density traits in rooted cutting and seedling of loblolly pine. Thèse North Carolina State University, Raleigh. 97 pages.

Curt, T., Bouchaud, M., Lucote, E., Bardonnnet, C., Bouquet, F., 1998. Influence des conditions géopédologiques sur le système racinaire et la croissance en hauteur du Douglas dans les monts du Beaujolais. *Ingénieries* 16: 29-46.

- Curt, T., Lucot, E., Bouchaud, M., 2001. Douglas-fir root biomass and rooting profile in relation to soils in a mid-elevation area (Beaujolais Mounts, France). *Plant and Soil* 233: 109–125.
- Dalla-Salda, G., Martinez-Meier, A., Cochard, H., Rozenberg, P., 2009. Variation of wood density and hydraulic properties of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) clones related to a heat and drought wave in France. *Forest Ecology and Management*. doi:10.1016/j.foreco.2008.08.019.
- Daubechies, I., 1992. *Ten Lectures on wavelets*. Society for industrial and applied mathematics, Philadelphia.
- David, J., Gibert, P., Gravot, E., Pétavy, G., Morin, J., Karan, D., Moreteau B., 1997. Phenotypic plasticity and developmental temperature in *Drosophila* : analysis and significance of reaction norms of morphometrical traits. *Journal of Thermal Biology* 22 (6): 441-451.
- Davis, M., Shaw, R., 2001. Range shifts and adaptive responses to quaternary climate change. *Science* 262 : 673-679.
- De Champs, J., 1997. *Le Douglas*. Afocel, Paris.
- De Martonne, E., 1926. L'indice d'aridité. *Bulletin de l'Association des géographes français*, 9 : 3-5.
- Decoux, V., Varcin, E. Leban, J., 2004. Relationships between the intra-ring wood density assessed by X-ray densitometry and optical anatomical measurements in conifers.

- Consequences for the cell wall apparent density determination. *Annals of Forest Science* 61 (3): 251-262.
- Département de la Santé des Forêts, 2004. Sécheresse et canicule de l'été 2003. Quelle incidence visuelle sur les peuplements forestiers? *Information Santé des Forêt*. Available in: http://www.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/isfweb_long.pdf
- DeWitt, T., Scheiner, S., 2004. *Phenotypic Plasticity. Functional and Conceptual Approaches*. Oxford University Press, Inc.
- Domec, J.C., Gartner, B., 2001. Age- and position-related changes in hydraulic versus mechanical dysfunction of xylem: inferring the design criteria for Douglas-fir wood structure. *Tree Physiology* 22: 91-104.
- Domec, J.C., Gartner, B., 2002. How do water storage differ in coniferous earlywood and latewood? *Journal of Experimental Botany* 53: 2369-2379.
- Domec, J.C., Gartner, B., 2003. Relationship between growth rates and xylem hydraulic characteristics in young, mature and old-growth ponderosa pine trees. *Plant, Cell and Environment* 26: 471-483.
- Domec, J.C., Meinzer, F., Gartner, B., Woodruff, D., 2005. Transpiration-induced axial and radial tension gradients in trunks of Douglas-fir trees. *Tree Physiology* 26: 275-284.
- Domec, J.C., Lachenbruch, B., Meinzer, F., 2006. Bordered pit structure and function determine spatial patterns of air seeding thresholds in xylem of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*, Pinaceae) trees. *American Journal of Botany* 93(11): 1588-1600.

- Doughty, P., Reznick, D., 2004. Patterns and analysis of adaptive phenotypic plasticity in animals. In: Phenotypic plasticity. Functional and conceptual approaches (DeWitt T.J. and Scheiner S.M. éditeurs): 126-150. New York: Oxford University Press.
- Douglass, A.E., 1920. Evidence of climate effects in the annuals rings of trees. *Ecology* 1 (1): 24-32.
- Douglass, A.E., 1933. Evidences of Cycles in Tree Ring Records. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 19: 350-360.
- Downes, G., Drew D., 2007. Climate and growth influences on wood formation and utilisation. IUFRO Durban 2007. 21 pages.
- Dufresne, J-L., Salas y Melia, D., Denvil, S., Tyteca, S., Arzel, O., Bony, S., Braconnot, P., Brockmann, P., Cadule, P., Caubel, A., Chauvin, F, Deque, M., Douville, H., Fairhead, L., Fichet, T., Foujols, M-A., Friedlingstein, P., Gueremy, J-F., Hourdin, F., Idelkadi, A., Levy, C., Madec, G., Marquet, P., Marti, O., Musat, I., Planton, S., Royer, J-F., 2006. Simulation de l'évolution récente et future du climat par les modèles du CNRM et de l'IPSL. *La Météorologie* 55: 45-59.
- Dunham, S., Lachenbruch B., Ganio, L., 2007. Bayesian analysis of Douglas-fir hydraulic architecture at multiple scales. *Trees* 21:65–78.
- Edwards, W., Jarvis, P., 1982. Relations between water content, potential and permeability in stems of conifers. *Plant Cell and Environment* 5, 271–277.
- Enquist, B.J., West, G., Charnov, E., Brown, J., 1999. Allometric scaling of production and life history variation in vascular plants. *Nature* 401: 907-911.

- Etterson, J.R., Shaw, R.G., 2001. Constraint to adaptive evolution in response to global warming. *Science* 294 (5): 151-154.
- Falconer, D.S., Mackay, T.F., 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. 4^o Edition, Longmans Green, Harlow, Essex, UK.
- Fritts, H., 1971. Dendroclimatology and Dendroecology. *Quaternary research* 1: 419-449
- Fritts, H.C., 1976. *Tree rings and climate*. Academic Press, London.
- Fry J.D., 1992. The mixed-model analysis of variance applied to quantitative genetics: biological meaning of the parameters. *Evolution* 46:540-550. In : Phenotypic plasticity. Functional and conceptual approaches, edited by DeWitt, T., et Scheiner, S., 2004.
- Fuhrer, J., Beniston, M., Fischlin, A., Frei, Ch., Goyette, S., Jasper, K., Pfister, Ch., 2006. Climate risks and their impact on agriculture and forests in Switzerland. *Climatic Change* 79:79–102.
- Fuller, T., 2003. The Integrative Biology of Phenotypic Plasticity. Book Review, *Biology and Philosophy* 18: 381–389.
- Futuyma, D.J., 1997. *Evolutionary Biology*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Gibert, P., Moreteau, B., David, J.R., 2004. Phenotypic plasticity of body pigmentation in *Drosophila melanogaster*. Genetic repeatability of quantitative parameters in two successive generations. *Heredity* 92: 499-507.
- Glerum, C., 1970. Drought ring formation in conifers. *Forest Science* 16: 246-248.

- Gonzalez, J.S., Richards, J., 1988. Early selection for wood density in young coastal Douglas-fir trees. *Canadian Journal of Forest Research* 18: 1182-1185.
- González-Elizondo, M., Jurado, E., Navar, J., González-Elizondo, S., Villanueva, J., Aguirre, O, Juménez, J., 2005. Tree-rings and climate relationships for Douglas-fir chronologies from the Sierra Madre Occidental, Mexico : A 1681-2001 rain reconstruction. *Forest Ecology and Management* 213: 39-53.
- Granier, A., Reichstein, M., Bréda, N., Janssens, I.A., Falge, E., Ciais, P. Grünwald T., Aubinet, M., Berbigier, P., Bernhofer, C., Buchmann, N., Facini, O., Grassi, G., Heinesch, B., Ilvesniemi, H., Keronen, P., Knohl, A., Köstner, B., Lagergren, F., Lindroth, A., Longdoz, B., Loustau, D., Mateus, J., Montagnani, L., Nys C., Moors, E., Papale, D., Peiffer, M., Pilegaard, K., Pita, G., Pumpanen, J., Rambal, S., Rebmann, C., Rodriguez, A., Seufert, G., Tenhunen, J., Vesala, T., Wang, Q., 2007. Evidence for soil water control on carbon and water dynamics in Europeans forest during the extremely dry year : 2003. *Agricultural and Forest Meteorology*, 143: 123-145.
- Guay, R., Gagnon R., Morin, H., 1992. A new automatic and interactive tree ring measurement system based on a line scan camera. *Forest Chronicle* 68: 138-141.
- Hacke, U., Sperry, J., Ewerds, B., Ellsworth, D., Schäfer, K., Oren, R., 2000. Influence of soil porosity on water use in pinus taeda. *Oecologia* 124: 495-505.
- Hacke, U., Sperry, J., 2001. Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in plant ecology, evolution and systematics* 4 (2): 97-115.

- Hacke, U., Sperry, J., Pockman, W., Davis, S., McCulloh, K., 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126: 457-461.
- Hacke, U., Sperry, J., Pittermann, J., 2004. Analysis of circular bordered pit function II. Gymnosperm tracheids with torus-margo pit membranes. *American Journal of Botany* 91 (3): 386-400.
- Haldimann, P., Galle, A., Feller, U., 2008. Impact of an exceptionally hot dry summer on photosynthetic traits in oak (*Quercus pubescens*) leaves. *Tree Physiology* 28 (5): 785-795.
- Hamrick, J., 2004. Response of forest trees to global environmental changes. *Forest Ecology and Management* 197 : 323–335.
- Héois, B., 1994. Variabilité juvenile chez *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. Contribution à la mise au point de tests précoces. Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon.
- Hirschi, M., Seneviratne, S., Schär, C., 2006. Seasonal variations in terrestrial water storage for major mid-latitude river basins. *Journal of Hydrometeor* 7: 39–60
- Howe, G., Jayawickrama, K., Cherry, M., Johnson, G., Wheeler, N., 2006. Breeding Douglas fir. In: *Plant Breeding Reviews*, Volume 27: 245-353.
- Hughes, M., Kelly, P., Pilcher, J., Valmore, C. LaMarche Jr., 1980. *Climate from Tree Rings*. New York, NY: Cambridge University Press. 223 pages.

IPCC, 2001. Climate Change 2001. Synthesis report. Summary for policymakers. Available in: <http://www.ipcc.ch/pdf/climate-changes-2001/synthesis-spm/synthesis-spm-en.pdf>

IPCC, 2007. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Summary for Policymakers. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Available in: <http://www.ipcc.ch/SPM2feb07.pdf>

Ivkovic, M., Rozenberg, P., 2004. A method for describing and modelling of within-ring wood density distribution in clones of three coniferous species. *Annals of Forest Science* 61: 759-769.

Johnson and Jayawickrama 2002, Genetics of wood specific gravity in coastal Douglas-fir. In: Jayawickrama K (ed) Proceedings of the Workshop Genetic Improvement of Wood Quality in Coastal Douglas-fir and Western Hemlock, Corvallis, 27 June 2002, pp 43–49.

Johnson, G., Gartner, B., 2006. Genetic variation in basic density and modulus of elasticity of coastal Douglas-fir. *Tree Genetics & Genomes*. 3: 25-33.

Kavanagh, K.L., Bond, B.J., Aitken, S.N., Gartner, B.L., Knowe, S., 1999. Shoot and root vulnerability to xylem cavitation in four populations of Douglas-fir seedlings. *Tree Physiology* 19: 31-37.

Kennedy R.W., 1961. Variation and periodicity of summerwood in some second-growth Douglas-fir. *Tappi* 44 (3): 161-166.

- King, J., Yeh, F., Heaman, J., Dancik, B., 1988. Selection of Wood Density and Diameter in Controlled Crosses of Coastal Douglas-fir. *Silvae Genetica*. 37: 152-157.
- Kramer, K., Buiteveld, J., Forstreuter, T., Geburek, S., Leonardi, P., Menozzi, F., Povillon, M., Schelhaas, E., Teissier du Cros, G., Vendramin, D. van der Werf, 2008. Bridging the gap between ecophysiological and genetic knowledge to assess the adaptive potential of European beech. *Ecological Modelling* 216: 333–353.
- Larson, P.R., 1963. The indirect effect of drought on tracheid diameter in red pine. *Forest Science* 9: 52-62.
- Larson, P.R., 1994. *The vascular cambium, development and structure*, Springer Verlag, Heidelberg & Berlin 725 pages.
- Lebourgeois F., 2000. Climatic signals in earlywood, latewood and total ring width of Corsican pine from western France. *Annals of Forest Science* 57: 155-164.
- Lebourgeois, F., 2007. Climatic signal in annual growth variation of silver fir (*Abies alba* Mill.) and spruce (*Picea abies* Karst.) from the French Permanent Plot Network (RENECOFOR). *Annals of Forest Science* 64: 333-343.
- Lebourgeois, F., 2000. Les chênes sessile et pédonculé (*Quercus petraea* Liebl. et *Quercus robur* L.) dans le réseau RENECOFOR : rythme de croissance radiale, anatomie du bois, de l'aubier et de l'écorce. *Revue Forestière Française*, 51(4): 522-536.
- Levinson, D.H., Waple, A.M., 2004. State of the Climate in 2003. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* 85, 72 p.

- Loo-Dinkins, J.A., Gonzalez, J.S., 1991. Genetic control of wood density profile in young Douglas-fir. *Canadian Journal of Forest Research* 21: 935-939.
- Loustau, D., Berbigier, P., Roumagnac, P., Arruda-Pacheco, C., David, J., Ferreira, M., Pereira, J., Tavares, R., 1996. Transpiration of a 64-year-old maritime pine stand in Portugal. *Oecologia* 107:33-42.
- Lynch, M., Walsh, B., 1998. *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sinauer Associates, Inc.
- Mainly, B., 1997. *Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology*, Second Edition. Chapman & Hall/CRC.
- Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Dalla-Salda, G., Pastorino, M., Gautry, J.Y., Gallo, L., Rozenberg, P., 2008a. Genetic control of the tree-ring response of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) to the 2003 drought and heat-wave in France. *Annals of Forest Science* 65. Available in: www.afs-journal.org.
- Martinez-Meier, A., Sanchez, L., Pastorino, M., Gallo, L., Rozenberg, P., 2008b. What is hot in tree rings? The wood density of surviving Douglas-firs to the 2003 drought and heat wavel. *Forest Ecol. Manage.*, Volume: 256 (4): 837-843.
- Martinez-Vilalta, J., Piñol, J., 2002. Drought-induced mortality and hydraulic architecture in pine populations of the NE Iberian Peninula. *Forest Ecology and Management* 161: 247-256.
- Martínez-Vilalta, J., Prat, E., Oliveras, I., Piñol, J., 2002. Xylem hydraulic properties of roots and stems of nine Mediterranean woody species. *Oecologia* 133:19–29.

- McElrone, A.J, Pockman, W.T., Martínez-Vilalta, J., Jackson, R.B., 2004. Variation in xylem structure and function in stems and roots of trees to 20 m depth. *New Phytologist* 163, 507-517.
- Meehl, G., Tebaldi, C., 2004. More Intensive, More Frequent, and Longer Lasting Heat Waves in the 21st Century. *Science* 305, 994.
- Météo France, 2003. Eléments climatologiques sur l'année 2003, conséquences du réchauffement global pour le climat de la France, Note au Ministre de l'Équipement, des Transports, du Logement et de la Mer, 17 pages.
- Moisselin, J-M., Schneider, M., Canellas, C., 2002. Les changements climatiques en France au XXe siècle. Étude des longues séries homogénéisées de données de température et de précipitations. *La Météorologie* 38 : 45-56.
- Mothe, F., Duchanois, G., Zannier, B., Leban, J-M., 1998. Analyse microdensitométrique appliquée au bois : méthode de traitement des données utilisée à l'Inra-ERQB (programme Cerd). *Annals of Forest Science* 55: 301-313.
- Mueller; R., Scudder, C., Porter, M., Talbor-Trotter III, R., Gehring, C., Whitham, T., 2005. Differential tree mortality in response to severe drought: evidence for long-term vegetation shifts. *J. Ecology*. 93, 1085-1093.
- Nahm, M., Radoglou, K., Halyvopoulos, G., Geßler, A., Rennenberg, H., Fotelli, M.N., 2005. Physiological Performance of Beech (*Fagus sylvatica* L.) at its Southeastern Distribution Limit in Europe: Seasonal Changes in Nitrogen, Carbon and Water Balance. *Plant Biology* 8: 52-63.

- Nason, G., Kovac, A., Maehler, M., 2006. Wavethresh: Software to Perform Wavelet Statistics and Transforms. R package version 2.2-9.
- Niklas, K., 1993. Influence of tissue density-specific mechanical properties on the scaling of plant height. *Annals of Botany* 72: 173–179.
- Noss, R., 2002. Beyond Kyoto: Forest Management in a Time of Rapid Climate Change. *Conservation Biology*, 15 (3): 578-590.
- Oberhuber, W., Kofler, W., Pfeifer, K., Seeber, A., Gruber, A., Wieser, G., 2008. Long-term changes in tree-ring–climate relationships at Mt. Patscherkofel (Tyrol, Austria) since the mid-1980s. *Trees* 22: 31-40.
- Olsthoorn, A., 1998. Soil acidification effects on fine root growth of Douglas-fir on sandy soils. PhD Thesis, University of Wageningen, 153 pages.
- Pâques, L., 2004. Roles of European and Japanese larch in the genetic control of growth, architecture and wood quality traits in interspecific hybrids (*Larix × eurolepis* Henry). *Annals of Forest Science* 61: 25–33.
- Parmesan, C., 2006. Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 37:637–669.
- Pastorino, M.J., Gallo, L. 2002. Quaternary evolutionary history of *Austrocedrus chilensis*, a cypress native to the Andean-Patagonian forest. *Journal of Biogeography* 29: 1167 - 1178.
- Phillips, N., Bond, B., McDowell, N., Ryan, M., 2002. Canopy and hydraulic conductance in young, mature and old Douglas-fir trees. *Tree Physiology* 22 (2/3): 205-211.

- Pigliucci, M., 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology and Evolution*. 20 (9): 481-486.
- Pigliucci, M., Schlichting, C., 1996. Reaction norms of *Arabidopsis*. IV. Relationships between plasticity and fitness. *Heredity* 76 (5): 427-436.
- Pittermann, J., Sperry, J., Hacke, U., Wheeler, J., Sikkema, E., 2006a. Inter-tracheid pitting and the hydraulic efficiency of conifer wood: the role of tracheid allometry and cavitation protection. *American Journal of Botany* 93(9): 1265–1273.
- Pittermann, J., Sperry, J., Wheeler, J., Hacke, U., Sikkema, E., 2006b. Mechanical reinforcement of tracheids compromises the hydraulic efficiency of conifer xylem. *Plant Cell and Environment* 29, 1618–1628.
- Planton, S., 2004. Changements climatiques futurs en France In: *Changements climatiques, quel impact en France?* Paris: Greenpeace. 139 pages. <http://www.greenpeace.org/raw/content/france/press/reports/impactsclimatiquesenfrance.pdf>
- Polge, H., 1966. Etablissement des courbes de variations de la densité du bois par exploration densitométrique de radiographies d'échantillons prélevés à la tarière sur des arbres vivants. Application dans les domaines technologiques et physiologiques. PhD thesis, Université de Nancy, Nancy 215 pages.
- Poyatos, R., Martinez-Vilalta, J., Cermak, J., Ceulemans, R., Granier, A., Irvine, J., Köstner, B., Lagergren, F., Meiresonne, L., Nadezhdina, N., Zimmermann, R., Llorens, P.,

- Mencuccini, M., 2007. Plasticity in hydraulic architecture of Scots pine across Eurasia. *Oecologia* 153 (2): 245-259.
- R Development Core Team 2008 R: A language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Available in: <http://www.R-project.org>.
- Raimondo, M., Stewart, M., 2007. The WaveD transform in R: performs fast translation-invariant wavelet deconvolution, *Journal of Statistical Software* 21 (3): 1–27.
- Rathgeber, C., Decoux, V., Leban, J., 2006. Linking intra-tree-ring wood density variations and tracheid anatomical characteristics in Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). *Annals of Forest Science* 63, 699-706.
- Rebetez, M., Mayer, H., Dupont, O., Schindler, D., Gartner, K., Kropp, J., Menzel A., 2006. Heat and drought 2003 in Europe: a climate synthesis, *Annals of Forest Science* 63: 569-577.
- Rehfeldt, G., Wykoff, W., Ying, C., 2001. Physiologic plasticity, evolution and impacts of a changing climate on *pinus contorta*. *Climate Change* 50: 355–376.
- Rehfeldt, G., Tchebakova, N.M., Parfenova, Y., Wykoff, W., Kuzmina, N., Milyutin, L., 2002. Intraspecific responses to climate in *pinus sylvestris*. *Global Change Biology* 8 (9): 912-929.
- Rennenberg, H., Loreto, F., Polle, A., Brilli, F., Fares, S., Beniwal, R., Gessler, A., 2006. Physiological responses of forest trees to Heat and Drought. *Plant Biology* 8: 556-571.

- Rigling, A., Waldner, P., Forster, T., Bräker, O., Pouttu, A., 2001. Ecological interpretation of tree-ring width and intraannual density fluctuations in *Pinus sylvestris* on dry sites in the central Alps and Siberia. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 18-31
- Robertson, E., Jozsa, L., 1988. Climatic reconstruction from tree rings at Banff. *Canadian Journal of Forest Research* 18 (7): 888-900.
- Robertson, E., Jozsa, L., Spittlehouse, D., 1989. Estimating Douglas-fir wood production from soil and climate data. *Canadian Journal of Forest Research* 20 (3): 357-364.
- Roff, D., Bradford, M., 2000. A quantitative genetic analysis of phenotypic plasticity of diapause induction in the cricket *Allonemobius socius*. *Heredity* 84: 193–200
- Rolland, C., and Lempérière, G., 2004. Effects of climate on radial growth of Norway spruce and interactions with attacks by the bark beetle *Dendroctonus micans* (Kug., Coleoptera: Scolytidae): a dendroecological study in the French Massif Central. *Forest Ecology and Management* 201 (1) : 89-104.
- Roman-Amat, B., 2007. Préparer les forêts françaises au changement climatique. Rapport à MM. les Ministres de l'Agriculture et de la Pêche et de l'Ecologie, du Développement et de l'Aménagement Durables, 125 pages.
- Root, T., Price, J., Hall, K., Schneider, S., Rosenzweig, C., Pounds, J., 2003. Fingerprints of global warming on wild animals and plants, *Nature* 421: 57-60.
- Rosner, S., Klein, A., Müller, U., Karlsson, B., 2007. Hydraulic and mechanical properties of young Norway spruce clones related to growth and wood structure. *Tree Physiology* 27: 1165–1178.

- Rosner, S., Klein, A., Müller, U., Karlsson, B., 2008. Tradeoffs between hydraulic and mechanical stress responses of mature Norway spruce trunk wood. *Tree Physiology* 28: 1179–1188.
- Rozenberg, P., Cahalan, C., 1997. Spruce and wood quality: genetic aspects (a review). *Silvae Genetica* 46: 270-279.
- Rozenberg, P., Franc, A., Commère, P., Schermann, N., Bastien, J-C., 1997. Height growth, wood density and dry fibre weight of four 33 year-old Douglas-fir provenances. In: *Proceedings of CTIA/IUFRO International Wood Quality Workshop. Timber Management Towards Wood Quality and End-Product Value, Vancouver, Canada, 18-22 August*: 83-90.
- Rozenberg, P., Franc, A., Cahalan, C., 2000. Incorporating wood density in breeding programs for softwoods in Europe: a strategy and associate methods. *Silvae Genetica* 50 (1): 1-7.
- Rozenberg, P., Franc, A., Bastien, C., 2001. Improving models of wood density by including genetic effects: A case study in Douglas-fir. *Annals of Forest Science* 58: 385-394.
- Rozenberg, P., Van Loo, J., Hannrup, B., Grabner, M. 2002. Clonal variation fo wood density record of cambium reaction to water deficit in *Picea abies* (L.) Karst. *Annals of Forest Science* 59: 533-540.
- Rozenberg, P., Pâques, L., 2004. Evidence of the effect of the climate of year 2003 on Douglas-fir and larch wood formation in France. In: *Abstract proceedings of*

- conference Impacts of the Drought and Heat in 2003 on Forests. Freiburg, Germany, 17-19 November: p 38.
- Rozenberg, P., Schüte, G., Ivkovich, M., Bastien, C., Bastien, J-C., 2004. Clonal variation of indirect cambium reaction to within-growing season temperature changes in Douglas-fir. *Forestry* 77: 257-268.
- Salinger, S., 2005. Increasing climate variability and change: reducing the vulnerability. *Climatic Change* 70: 1-3.
- Sanchez-Vargas, N., Sanchez, L., Rozenberg, P., 2007. Plastic and adaptive response to weather events: a pilot study in a maritime pine tree ring, *Canadian Journal of Forest Research* 37: 2090–2095.
- Sarkar, S., 1999. From the Reaktionsnorm to the Adaptive Norm: The Norm of Reaction, 1909–1960. *Biology and Philosophy* 14: 235–252.
- Sarris, D., Christodoulakis, D., Körner, C., 2007. Recent decline in precipitation and tree growth in the eastern Mediterranean. *Global Change Biology* 13: 1187–1200.
- Savolainen, O., Bokma, F., García-Gil, R., Komulainen, P., Repo T., 2004. Genetic variation in cessation of growth and frost hardiness and consequences for adaptation of *Pinus sylvestris* to climatic changes. *Forest Ecology and Management* 197: 79–89.
- Saxe, H., Cannel, M.G.R., Johnsen, Ø., Ryan, M.G., Vourlitis, G., 2001. Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytologist* 149: 369-400.

- Schär, C., Vidale, P.L., Lüthi, D., Frei, C., Häberli, C., Mark, A., Liniger, M.A., Appenzeller, C., 2004. The role of increasing temperature variability in European summer heatwaves. *Nature* 427: 332-336.
- Scheider, S.M., Lyman, R.F., 1989. The genetics of phenotypic plasticity. I Heritability. *Journal of Evolutionary Biology* 2: 95-107.
- Schermann, N., 1994. Etude des parametres genetiques de trois populations de douglas vert (*Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO). Analyse d'un diallele 16 x 16. Consequences pour la Strategie d'amélioration génétique de l'espece. Thèse Docteur de l'Institut national agronomique Paris-Grignon.
- Schiller, G., Cohen, Y., 1995. Water regime of a pine forest under a Mediterranean climate. *Agricultural and Forest Meteorology* 74: 181-193.
- Schweingruber, F., Bräcker, O., Schär, E., 1979. Dendroclimatic studies on conifers from central Europe and Great Britain. *Boreas* 8: 427-452.
- Silen, R., 1978. Genetics of Douglas-fir. USDA Forest Service, Research Paper, WO – 35, 34 pages.
- Skomarkova, M., Vaganov, E., Mund, M., Knohl, A., Linke, P., Boerner, A., Schulze, E., 2006. Inter-annual and seasonal variability of radial growth, wood density and carbon isotope ratios in tree rings of beech (*Fagus sylvatica*) growing in Germany and Italy. *Trees*. 20 (5): 571-586.
- Skrøppa, T., Kohmann, K., 1997. Adaptation to local conditions after one generation in Norway spruce. *Forest Genetics* 4: 165-171.

- Sonesson, J., Ericksson, G., 2000. Genotypic stability and genetic parameters for growth and biomass traits in a water x temperature factorial experiment with *Pinus sylvestris* L. seedlings. *Forest Science* 46: 487-495.
- Sonesson, J., Jansson, G., Eriksson, G., 2002. Retrospective genetic testing of *Picea abies* under controlled temperature and moisture regimes. *Canadian Journal of Forest Research* 32: 81-91.
- Sperry, J.S and Tyree, M.T., 1990. Water-stress-induced xylem embolism in three species of conifers. *Plant Cell and Environment* 13: 427–436.
- Sperry, J.S., Donnelly, J.R., Tyree, M.T., 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant Cell and Environment* 11: 35-40.
- Sperry, J., Pockman, W., 1993. Limitation of transpiration by hydraulic conductance and xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant Cell and Environment* 16:279-288.
- Sperry, J.S., Hacke, U.G., Pittermann, J., 2006. Size and function in conifer tracheids and angiosperms vessels. *American Journal of Botany* 93: 1490-1500.
- Sperry, J.S., Pockman, W., 1993. Limitation of transpiration by hydraulic conductance and xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant Cell and Environment* 16: 279-288.
- Spicer, R., Gartner, B., 2001. The effects of cambial age and position within the stem on specific conductivity in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) sapwood. *Trees* 15: 222–229.
- St. Clair, J.B., Howe G., 2007. Genetic maladaptation of coastal Douglas-fir seedlings to future climates. *Global Change Biololy* 13: 1441–1454.

- Stott, P., Stone, D., Allen, M., 2004. Human contribution to the European heat wave of 2003. *Nature* 432: 610-614.
- Stratton, L., Goldstein, G., Meinzer, F., 2000. Stem water storage capacity and efficiency of water transport: their functional significance in a Hawaiian dry forest. *Plant Cell Environment* 23: 99-106.
- Sultan, S., 2004. Promising directions in plant phenotypic plasticity. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 6/4: 227-233.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2006. *Plant physiology*. Sinauer Associates, Inc.
- Thivolle-Cazat, A., 2004. Le Douglas en France : une ressource résineuse en pleine expansion. Available in:
<http://www.afocel.fr/Foret/Ressources/Douglas/4%20pagesF.Douglas.pdf>
- Thompson, J.D., 1991. Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trends in Ecology and Evolution* 6: 246-249.
- Tinus, R., 1996. Root growth potential as an indicator of drought stress history. *Tree Physiology* 16 (9): 795-799.
- Tucić, B., Milojković, S., Tarasjev, A., Vujčić, S., 1989. The influence of climatic factors on clonal diversity in a population of *Iris pumila*. *Oikos* 56: 115–120.
- Tyree, M., Kolb, K., Rood, S., Patiño, S., 1994. Vulnerability to drought-induced cavitation of riparian cottonwoods in Alberta: a possible factor in the decline of the ecosystem?. *Tree Physiology* 14: 455-466.

- Tyree, M., Sperry, J., 1989. Characterization and propagation of acoustic-emission signal in woody-plants-towards an improved acoustic-emission counter. *Plant Cell and Environment* 12: 371-382.
- Tyree, M.T., Ewers, F.W., 1991. Tansley Review 34. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* 119: 345–360.
- Tyree, M.T., Zimmerman, M.H., 2002. Xylem structure and the ascent of sap, Second edition. Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K, Second edition.
- UNEP, 2004. Impacts of summer 2003 heat wave in Europe. http://www.grid.unep.ch/product/publication/download/ew_heat_wave.en.pdf : 4 p.
- Vaganov, E., Hughes, M., Shashkin, A., 2006. Growth Dynamics of Tree Rings: Images of Past and Future Environments, Springer, New York.
- Valladares, F., Gianoli, E., Gómez, J.M., 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. Review, *New Phytologist* 176: 749-763.
- Vallée, B., Bombraut, S., 2004. Conséquences de la canicule de l'été 2003 sur les peuplements de douglas en Sologne. *Forêt entreprise* 159: 11-13.
- Vargas-Hernandez, J., Adams, W., 1991. Genetic variation of wood density components in young coastal Douglas-fir: implications for tree breeding, *Canadian Journal of Forest Research* 21(12): 1801–1807.
- Vargas-Hernandez, J., Adams W., 1994. Genetic relationships between wood density components and cambial growth rhythm in young coastal Douglasfir. *Canadian Journal of Forest Research* 24: 1871 – 1876.

- Vargas-Hernandez, J., Adams, W., Krahmer, R., 1994. Family variation in age trends of wood density traits in young coastal Douglas-fir. *Wood Fiber Science* 26: 229-236.
- Verbeeck, H., Steppe, K., Nadezhdina, N., Op de Beeck, M., Deckmyn, G., Meiresonne, L., Lemeur, R., Cermak, J., Ceulemans, R., Janssens, I., 2007. Stored water use and transpiration in Scots pine: a modeling analysis with ANAFOR. *Tree Physiology* 27 (12) : 1671-1685.
- Walther, G., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T., Fromentin, J. M., Hoegh-Guldberg, O., Bairlein, F., 2002. Ecological responses to recent climate change, *Nature* 416: 389-395.
- Waring, R., Running, S., 1978. Sapwood water storage: its contribution to transpiration and effect upon water conductance through the stems of old-growth Douglas-fir. *Plant Cell and Environment* 1: 131-140.
- Watson, E., Luckman, B., 2002. The dendroclimatic signal in Douglas-fir and ponderosa pine tree-ring chronologies from the southern Canadian Cordillera. *Canadian Journal of Forest Research* 32: 1858-1874.
- Westfall, R., Millar, C., 2004. Genetic consequences of forest population dynamics influenced by historic climatic variability in the western USA. *Forest Ecology and Management* 197: 159–170.
- White, T., Adams, T., Neale, D., 2008. *Forest Genetics*. CABI Publishing.
- Wilkes, J., 1987. Interpreting patterns of variation in tracheid morphology in *Pinus* species, *Commonw. For. Rev.* 66 (1987) 177-190.

- Wu, H., Matheson, A., 2004. General and specific combining ability for partial diallels of radiata pine: Implications for utility of SCA in breeding and deployment populations. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 1503-1512.
- Wu, R., and Stettler, R., 1998. Quantitative genetics of growth and development in *Populus*. III. Phenotypic plasticity of crown structure and function. *Heredity* 81: 299-310.
- Yassin Abdel-Gadir, A. and Krahmer, R., 1993a. Genetic variation in the age of demarcation between juvenile and mature wood in Douglas-fir. *Wood and fiber science* 25 (4): 384-394.
- Yassin Abdel-Gadir, A., Krahmer, R., 1993b. Estimating the age of demarcation of juvenile and mature wood in douglas fir. *Wood and fiber science* 25 (3): 242-249.
- Zahner, R., 1968. Water deficits and growth of trees. In: *Water deficits and plant growth* (eds Kozlowski TT). Academic Press, New York : 191-254.
- Zamudio, F., Rozenberg, P., Baettig, R., Vergara, A., Yañez, M., Gantz, C., 2005. Genetic variation of wood density components in a radiata pine progeny test located in the south of Chile. *Annals of Forest Science* 62: 105-114.
- Zhang, Q., Hebda, R., 2004. Variation in radial growth patterns of *Pseudotsuga menziesii* on the central coast of British Columbia, Canada. *Canadian Journal of Forest Research*. 34: 1946-1954.
- Zobel B., Sprague J., 1995 *Juvenile wood in Forest trees*. Springer Series in wood science. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.

Zobel, B., van Buijtenen, J., 1989. Wood variation its causes and control. Springer-Verlag
Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K.

Zobel, B.J., Jett, J.B., 1995. Genetics of wood production. Springer-Verlag.

Annexe

[Article complémentaire]: Variation of wood density and hydraulic properties of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) clones related to a heat and drought wave in France. Dalla-Salda Guillermina, Martinez-Meier A., Cochard H., Rozenberg P., *Forest Ecology and Management* (2009) 257: 182-189.

Relation entre les variables qui décrivent les propriétés hydrauliques du xylème et la microdensité.

Il n'existe pas de preuve de l'existence de liens entre les dégâts généralisés comme la mortalité des arbres suite à la canicule 2003 et des contraintes liées à l'architecture hydraulique chez le douglas. Nous avons exploré la variation environnementale et génétique de la conductivité hydraulique, la résistance à la cavitation et de variables de microdensité du bois dans deux sites différemment affectés par la canicule de 2003. L'objectif était de comprendre si les arbres ont été affectés différemment par la canicule en observant leur conductivité spécifique après cet événement, de rechercher l'existence de différences génétiques pour la résistance à la cavitation, et de rechercher des relations avec la microdensité du bois. Nous avons comparé non seulement deux sites, mais aussi deux années différentes grâce à une nouvelle méthodologie qui permet de mesurer la conductivité hydraulique à l'intérieur du cerne. Les résultats ont montré que les branches sont plus résistantes à la cavitation que le tronc. Donc, l'apparition de mortalité apicale chez le douglas vert est un signal très tardif de cavitation par stress hydrique dans le tronc. Nous avons démontré l'existence d'une variabilité génétique significative de la résistance à la cavitation pour les clones étudiés. Dans le site fortement affecté par la canicule, les arbres ont montré une réduction très forte de conductance spécifique, divisée par 100 par rapport à celle mesurée dans le site moins affecté par les conditions de l'année 2003. Ce résultat suggère que la plupart des trachéides des arbres du site le plus affecté ont été embolisées suite à la canicule de 2003.

Les résultats démontrent que le clone le plus résistant à la cavitation dans les deux sites est le clone avec la densité moyenne de cerne et la densité minimum de cerne les plus élevées. Des trachéides avec des parois plus épaisses et/ou des diamètre de lumens plus petits correspondant à une densité du bois plus élevée amélioreraient la résistance à la cavitation, en permettant aux arbres de mieux préserver l'intégrité de leur système hydraulique, notamment dans des conditions climatiques extrêmes semblables à celles de la canicule 2003.

Les résultats montrant l'existence de variation génétique pour les variables qui décrivent l'architecture hydraulique chez le douglas et l'existence déjà connue d'un important contrôle génétique de la densité de bois indiqueraient qu'il y aurait, dans les populations de douglas vert introduits en France, un potentiel pour s'adapter aux événements climatiques extrêmes comme la canicule 2003. Ce potentiel peut être exploré dans le cadre du programme d'amélioration génétique du douglas, permettant de sélectionner des génotypes mieux adaptés à des conditions de stress hydrique ?



Variation of wood density and hydraulic properties of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) clones related to a heat and drought wave in France

Guillermína Dalla-Salda^{a,b,*}, Alejandro Martínez-Meier^c, Hervé Cochard^d, Philippe Rozenberg^a

^aINRA (Institut National de la Recherche Agronomique) Orléans, Unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestières, 2163 Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001 ARDON, 45075 Orléans Cedex 2, France

^bINTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) Bariloche, Unidad de Ecología Forestal, C.C. 277, 8400 San Carlos de Bariloche, Argentina

^cINTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) Bariloche, Unidad de Genética Forestal, C.C. 277, 8400 San Carlos de Bariloche, Argentina

^dINRA (Institut National de la Recherche Agronomique) Clermont-Ferrand, PIAF, Site de Crouel, Avenue du Brézet, 63100 Clermont-Ferrand, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 June 2008

Received in revised form 21 August 2008

Accepted 21 August 2008

Keywords:

Tree-ring conductivity

Cavitation

Wood density

Adaptation

Climate changes

ABSTRACT

Drought response of three Douglas-fir clones (slow, intermediate and fast growing) inhabiting two different climatic regimes in France was examined. We used the hydraulic conductivity and the percent loss of conductivity due to embolism from stems and branches as well as wood microdensity measurements to determine the role of genetics in the control of embolism in this species. Conductivity and tree-ring's microdensity variables (ring width: RW, mean ring density: MRD, minimum ring density: MID and maximum ring density: MAD) were compared in growth rings in all three clones during a typical year (2002) vs. an extremely dry year (2003). A new method was developed in order to assess axial hydraulic specific conductivity (K_s) within tree rings. The results show that branches are more resistant to embolism than stems, and that there are significant differences in embolism resistance among the clones between the two sites. K_s varied between years, sites and clones but the site exerted the most significant effect. Lartimache (more humid site during 2003) trees showed substantially higher K_s than those inhabiting Chassennoix (strongly affected by the 2003 heat and drought wave site). Wood analysis showed a significant year effect for all ring variables and a significant clone effect for all ring variables except for MAD, while the site effect was significant for MRD and MAD. The existence of a genetic control for the study traits indicates that Douglas-fir populations introduced in France may have a selection potential to face extreme climate events like the 2003 heat and drought wave.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The drought and heat wave which occurred in Europe in summer 2003 (Meehl and Tebaldi, 2004; Levinson and Waple, 2004; Rebetez et al., 2006) strongly affected trees. Visible consequences were reported in several regions of France, from partial crown necrosis to the death of some individuals (Bréda et al., 2004; Rozenberg and Pâques, 2004). Douglas-fir, an important productive forest species in temperate regions, originating from North-West America and abundantly introduced in

France, was one of the species strongly affected (Département de la Santé des Forêts, 2004; Martínez Meier et al., 2008).

A drought is characterized by a strong decrease of water availability in the soil. According to Bréda et al. (2006) the first reaction of a tree to this diminution is the decrease of transpiration by stomatal closure, generally accompanied by a growth reduction. Such a significant growth reduction was observed in Douglas-fir by Martínez Meier et al. (2008) in the ring formed during the year 2003, noticeably in a French site severely affected by the 2003 heat and drought wave. They also showed that this growth reduction was accompanied by a wood density decrease. Douglas-fir was susceptible to the 2003 heat and drought wave and this response was recently found to be genetically controlled (Martínez Meier et al., 2008). But is this variation meaningful from an adaptive point of view? In other words, does the genetic variation of the response to the climate of the year 2003 affect this species fitness?

One way to answer this question is to simultaneously investigate the variation of ring density components with that

* Corresponding author at: INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) Orléans, Unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestières, 2163 Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001 ARDON, 45075 Orléans Cedex 2, France.

Tel.: +33 238417873; fax: +33 238417879.

E-mail address: dallasalda@orleans.inra.fr (G. Dalla-Salda).

of traits well known to have an adaptive significance and to affect the species fitness.

When the length and the intensity of a drought increase, cavitation may occur in xylem conduits (Bacelar et al., 2007) followed by early mortality of roots and twigs and, ultimately, by tree death (Bréda et al., 2006). The hydraulic-failure hypothesis predicts that high evaporative demand and reduced soil water supply cause xylem conduits to cavitate, stopping the flow of water and desiccating plant tissues. Hydraulic failure occurs when drought is intense enough to lead plants to run out of water before they run out of carbon (McDowell et al., 2008). Vulnerability to cavitation is influenced by the structure of the xylem (Hacke et al., 2001a; Domec and Gartner, 2002a). According to several authors (Stratton et al., 2000; Hacke et al., 2001a; Bucci et al., 2004), it is particularly closely related to the proportion of lumen-cell wall in the xylem: thicker cell walls and smaller diameter lumens could help trees to preserve their hydraulic system (Sperry et al., 2006; Pittermann et al., 2006). Conduits' length and diameter and wall thickness can also influence flow resistance and wall collapse (Sperry et al., 2006). The conduction function is radically affected by the variation of the internal diameter of xylem tracheids (Tyree et al., 1994; Cruziat et al., 2002; McElrone et al., 2004): the Hagen-Poiseuille law shows that flux in a capillary tube depends on the 4th power of this tube's diameter (Zimmermann, 1983; Tyree and Ewers, 1991; Aumann and Ford, 2006). Moreover, anatomical features of wood and particularly tracheid lumen diameter and cell-wall width are strongly related to wood density (Rathgeber et al., 2006). Indeed, the wood density of a wooden sample is a function of the proportion of cell wall in the wood volume (Zobel and van Buijtenen, 1989; Pittermann et al., 2006). Hence variation of wood density may have an impact on conduction properties and on the vulnerability to cavitation.

The objective of this study is thus to compare the variation of Douglas-fir ring density characteristics between sites, clones and year-rings, with the variation of traits recognized to have an effect on tree fitness and related to wood conduction properties. These traits are vulnerability to cavitation (VC) and native axial specific hydraulic conductivity (K_s). VC indirectly measures the effects of induced embolism on K_s (Sperry et al., 1988; Sperry and Tyree, 1990). K_s is a measure of the hydraulic efficiency of the xylem in relation to wood's transverse section. For the same pressure gradient in a tube segment, a small increase of the internal diameter strongly increases K_s (Sperry and Tyree, 1990; McElrone et al., 2004). The other factor strongly influencing the value of K_s is the proportion of embolised tracheids in the xylem since we measure native conductivity. In this work we used a novel method to measure this variable, allowing us to precisely and individually assess K_s in different tree rings and then to relate its variation to that of tree-ring microdensity variables, as well as to tree's vulnerability to cavitation.

These results are discussed in the frame of the selection potential of Douglas-fir to face the global climate change and of the development of this species breeding program in France.

2. Material

2.1. Site and material description

The plant material used in this study is a selection within a clonal experimental design used by Martínez Meier et al. (2008): three clones (among nine) were selected in two clonal trials planted in two different sites. The two chosen sites are typical of two French regions where Douglas-fir is abundantly planted: Chassenoix, Northeast of Massif-Central, Morvan, and Lartimache, West of Massif-Central, Haute Vienne, Limousin. Both sites, planted by FCBA (Institut

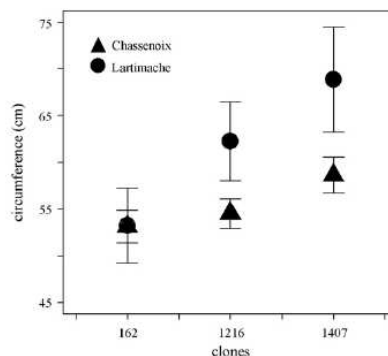


Fig. 1. Trees' circumferences at breast height for each clone in each site.

Technologique Forêt, Cellulose, Bois et Ameublement, France), were differently affected by the 2003 heat and drought wave: the first was strongly affected, while in Lartimache, the year 2003 was just slightly dryer and warmer than habitually. Trees in Lartimache present larger circumferences than trees in Chassenoix (Fig. 1).

The three clones were selected by means of their growth characteristics in order to cover a larger variability. While not directly an adaptation trait by itself, growth is obviously related to adaptation. Thus large between-clone differences for growth may indicate differences for adaptation. In the absence of direct information, selecting extreme clones for growth is assumed to be a way to select differently adapted clones. Clone 1407 with the larger circumferences in both sites, clone 162 with the smallest circumferences and equal in both sites and clone 1216 between them (Fig. 1).

For the period 1994–2004 Chassenoix and Lartimache showed similar mean annual precipitations, with 1212 mm and 1206 mm, respectively, while Lartimache had higher annual means for maximum and minimum temperatures: 16.8 and 6.3 °C respectively, against 15.3 and 5 °C in Chassenoix. Particularly, in the year 2003, we found great climatic differences. We computed a Standardized Climatic Index (SCI) to describe the between-site difference of the climate conditions of the year 2003 (Barbu and Popa, 2003).

$$SCI_{2003} = \frac{CI_{2003} - CI_{\chi}}{s.d.CI_{\chi}} \quad (1)$$

where CI_{2003} is the Climatic Index of the year 2003, CI_{χ} is the mean Climatic Index for the period 1994–2004 and $s.d.CI_{\chi}$ is the standard deviation of the Climatic Index during the period 1994–2004.

This Climatic Index (CI) was computed based on the index of De Martonne (1926), calculated as a function of the cumulated daily maximum temperature (T_{max}) and of the cumulated annual precipitation (P_p) of the year i as follows:

$$CI = \frac{T_{max}}{P_p} \quad (2)$$

For the year 2003 we found in Chassenoix a SCI of 2.51 ($CI = 7.32$), while in Lartimache it was only of 0.93 ($CI = 5.71$). Regarding the year 2002 we computed in Chassenoix and Lartimache an SCI of only 0.21 ($CI = 4.97$) and 0.54 ($CI = 4.82$), respectively.

2.2. Wood sampling

During April 2006 we harvested four trees per clone per site (24 trees in total). Of each tree we collected 5 branches of about 2.5 cm

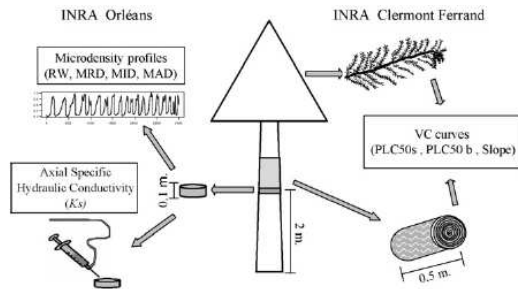


Fig. 2. Sample preparation and destination. We collected 5 branches, a piece of stem of about 50 cm long and a disk of about 10 cm thick per tree. Branches and the 50 cm piece were used to build vulnerability to cavitation curves at INRA Clermont-Ferrand. The disks were used to measure axial hydraulic conductivity in rings 2002 and 2003, and to obtain X-ray microdensity profiles at INRA Orléans.

of diameter at the base and we took also a piece of stem 50 cm long at 2 m high, to obtain the vulnerability to cavitation curves. We also cut a disk of 10 cm thick to measure hydraulic conductivity in rings 2002 and 2003, and to obtain X-ray microdensity profiles. All the samples were thoroughly wrapped with wet tissues and were placed into thick black plastic bags in order to avoid dehydration and cavitation.

The disks were immediately taken to INRA Orléans for conductivity and microdensity measurements while the stems and the branches were transported to INRA Clermont-Ferrand for vulnerability to cavitation curves measurements (Fig. 2).

3. Methods

3.1. Microdensity profiles

In this study, wood density variables were assessed using the indirect X-ray method developed by Polge (1966). The microdensity profiles finely describe within and between ring radial wood density variations. The upper and/or lower parts of the disks not used to measure K_s were sawn into four stripes with a double blade saw. These were about 8 mm width and 1.5 mm thick and as long as the sample's radius. Then they were air dried up to moisture equilibrium and subsequently analysed by indirect X-ray microdensitometry (Polge, 1966). The resulting X-ray films were scanned at 1000 dpi of resolution with 8 bits per pixel. The digitalized images were processed by using WinDENDRO, Regent Instruments Inc. (Guay et al., 1992), obtaining a microdensity profile with a spatial resolution of 25 μm (Fig. 3).

The last step of the data process used a computer routine written in R language (R Development Core Team, 2007) to assess the following ring variables: ring width (RW), mean ring density (MRD), minimum ring density (MID) and maximum ring density (MAD) (Fig. 3).

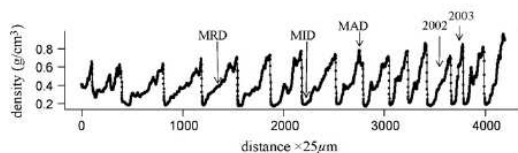


Fig. 3. Example of a microdensity profile of a Lartimache tree. Arrows show: MRD (mean ring density), MAD (maximum density) and MID (minimum density) in different tree-rings. 2003 tree-ring is narrower than the 2002 tree-ring in Lartimache, 2003 MAD is higher than that of 2002.

3.2. Stem and branches vulnerability to cavitation (VC) curves

In order to obtain the pieces of wood compatible with the measurement equipment, we extracted trunk longitudinal portions making two cuts, in V, with a circular saw. Out of the latter we cut bars of about 0.5 cm of diameter, with a knife, following the wood grain, which was not always perfectly straight on these trees. This was done in the outermost sapwood portion.

To establish VC curves, we used a technique developed by Dr. H. Cochard and his team at INRA Clermont-Ferrand, France (Cochard, 2002; Cochard et al., 2005). Samples were not saturated restoring maximum conductivity in order to avoid cavitation fatigue. Refilling may also leave behind small micro-bubbles that could nucleate cavitation during subsequent stress (Hacke et al., 2001b).

The VC curves were established on the stems and the branches. The measurements conducted on branches were useful to compare the VC curves obtained with the centrifuge technique used in this study with the VC curves obtained with other techniques used in the previously published articles.

Once the VC curves were constructed, one parameter was calculated to describe their variation: the PLC50 pressure (point of the curve with a 50% loss of conductivity at a determined pressure), calculated according to Domec and Gartner (2001) for stems (PLC50_s) and for branches (PLC50_b).

3.3. Axial specific hydraulic conductivity (K_s)

The discs harvested on the field have been sawn again in order to obtain a central disc of about 25 mm thick and then have been immediately immersed again into water. Then these discs were sawn perpendicularly in order to get four quadrants and again kept in water. All these manoeuvres were done under a humid atmosphere, acquired by constantly vaporizing water over the samples.

To measure the tree rings axial hydraulic conductivity (K_s), we used a 2 mm diameter veterinary needle, connected to the end of a water column. The needle was carefully inserted, under the water, into the earlywood of a selected sapwood ring, taking care of having no air bubbles inside it. The other extremity of the 120 mm-long column was connected to a micro-pipette allowing reading of changes of water volume through time.

The system has been filled with distilled Phloxine coloured water, making reading easier and permitting to permanently verify dripping and absence of air bubbles. Besides, we could verify that coloured water really passed through the sample and arrived exactly to the other side, in the same portion of the ring where the needle was pricked.

Sapwood's specific conductivity (K_s) was calculated according to Darcy's law (Edwards and Jarvis, 1982):

$$K_s = \frac{V \times L \times \eta}{t \times A \times \Delta P} \quad (3)$$

where V is the volume of water that went through the sample (m^3), L is the sample length (m), η is the viscosity of water at the temperature at which the experiment was conducted (N s m^{-2}), t is the time (s), A the cross-sectional area (m^2) of the needle and ΔP is the pressure difference (0.0118 MPa) between both ends of the sample. The entire cross-section of each sample was assumed to be functional sapwood. Measurements were conducted in rings 2002 and 2003. In order to choose and systematize the part of the ring where the needle was going to be inserted we conducted measurements considering different parts of the ring: earlywood, transition between earlywood and latewood and, in few cases, in the latewood part only.

K_s was expressed in m^2 as a consequence of separating the viscosity (η) from the driving agent in terms of a pressure difference. Thus, K_s is determined only by wood structure and is independent of the nature of the fluid (Domec and Gartner, 2002b).

In this study, the samples were not restored to maximum conductivity prior to VC and K_s measurements. It implies that K_s is an indirect measure of the proportion of embolised tracheids in the xylem.

3.4. Data analysis

For PLC50, the existence of significant environmental (site) and genetic (clone) effects was tested using the following ANOVA linear model, through aov function of R software (R Development Core Team, 2007).

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ij} \quad (4)$$

where y_{ij} is the PLC50 observed value in the i th site and of the j th clone, μ is the general mean, α_i is the fixed effect of i th site, β_j is the fixed effect of j th clone, $(\alpha\beta)_{ij}$ is the interaction between i th site and j th clone, and ε_{ij} is the random error.

The K_s variable did not originally satisfy the conditions of the linear model. Transformation methods were unsuccessful to normalize K_s values. Therefore the existence of significant environmental (site and year) and genetic (clone) effects was tested using a non-parametric Kruskal–Wallis analysis of variance using kruskal.test function in R software (R Development Core Team, 2007).

For the ring variables we used the following ANOVA model, incorporating the year effects, through aov function in R software

Table 1

Results of fixed effect analysis of variance (associated probability) for ring width (RW), mean ring density (MRD), minimum ring density (MID) and maximum ring density (MAD)

Variable	d.f.	RW	MRD	MID	MAD
Site	1	0.8587	<2.2 ⁻¹⁶ ***	0.8674	3.4710 ⁻⁸ ***
Year	1	1.3430 ⁻⁸ ***	0.0030 ^{***}	2.786 ⁻¹⁵ ***	1.685 ⁻¹³ ***
Clone	2	<2.2 ⁻¹⁶ ***	6.2640 ⁻¹⁴ ***	<2.2 ⁻¹⁶ ***	0.1312
Site × year	1	0.9455	<2.2 ⁻¹⁶ ***	0.1335	<2.2 ⁻¹⁶ ***
Site × clone	2	1.5760 ⁻⁵ ***	0.0484 [*]	0.0019 ^{***}	0.4933
Year × clone	2	0.8419	0.0123 [*]	0.2122	0.1877

d.f.: degrees of freedom. Sig. level: * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$.

(R Development Core Team, 2007):

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\delta)_{ik} + (\beta\delta)_{jk} + \varepsilon_{ijk} \quad (5)$$

where y_{ijk} is the ring variable observed, μ is the general mean, α_i is the fixed effect of i th site, β_j is the fixed effect of j th year, δ_k is the fixed effect of k th clone, $(\alpha\beta)_{ij}$ is the interaction between i th site and j th year, $(\alpha\delta)_{ik}$ is the interaction between i th site and k th clone, $(\beta\delta)_{jk}$ is the interaction between j th year and k th clone, and ε_{ijk} is the random error.

4. Results

4.1. Microdensity parameters

The values obtained for RW, MRD, MID and MAD are represented in Fig. 4. RW is smallest for clone 162 (even though it is not significant for Chassenoix 2002 tendencies are the same).

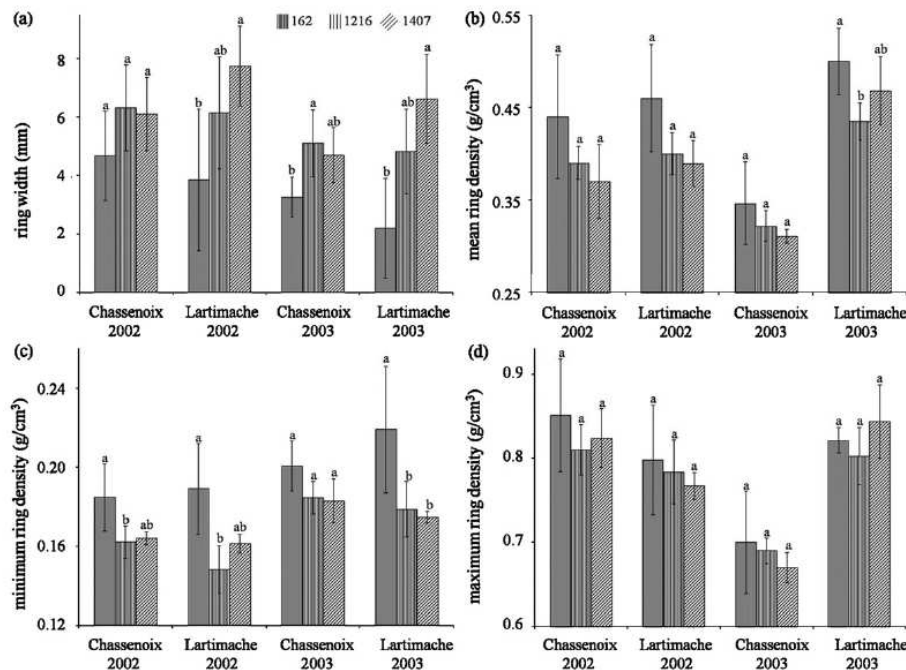


Fig. 4. (a–d) Ring width (RW), mean ring density (MRD), minimum ring density (MID) and maximum ring density (MAD), respectively. Mean values and standard error per clone and per year in each site. Different letters show groups with significant differences ($P < 0.05$) between clones in a site within a tree-ring.

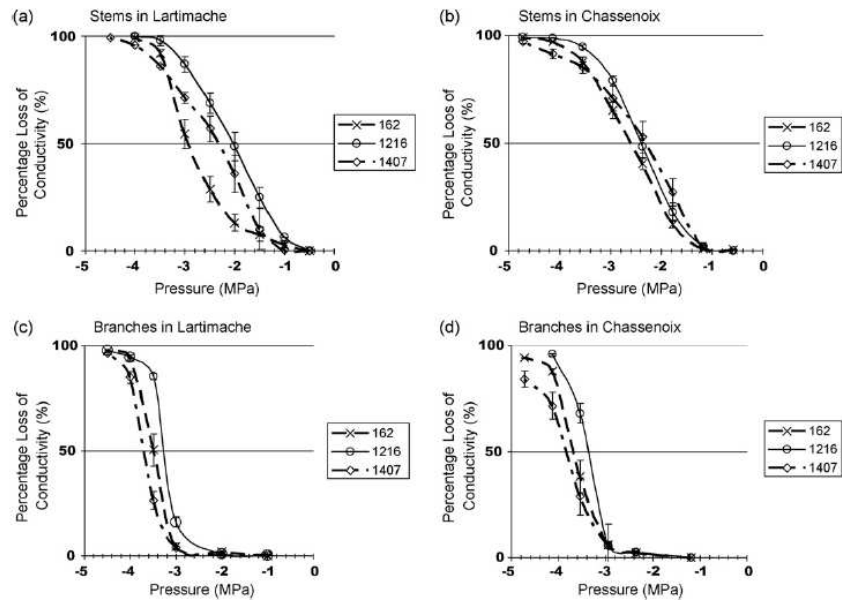


Fig. 5. Vulnerability to cavitation (VC) curves: percentage loss of conductivity (PLC) as a function of the xylem pressure (ψ), for the three Douglas-fir clones in each site, (a and b) VC curves for the stems, and (c and d) for the branches. The branches were significantly ($P < 0.001$) less vulnerable than the stems in both sites and for all three clones.

Ring 2003 is always narrower than ring 2002. MRD and overall MAD are significantly and especially low in 2003 in Chassenoix. Clone 162 showed a significantly higher MID in both sites for both year-rings.

We found a significant year effect for all ring variables and a significant clone effect for all ring variables except for MAD, while the site effect was significant for MRD and MAD (Table 1).

4.2. Stem and branches vulnerability to cavitation (VC) curves

Fig. 5 show the VC curves constructed for each site and each clone. Fig. 5a and b show the VC curves for the stems, and Fig. 5c and d for the branches. We carried further analysis (not shown here) showing that the branches were significantly ($P < 0.001$) less vulnerable than the stems in both sites and for all three clones.

The general mean of Douglas-fir's $PLC_{50\psi}$ growing in two different environments was -2.45 ± 0.42 MPa. Table 2 shows the results of the ANOVA computed for $PLC_{50\psi}$. The clone effect was significant, but not the site effect, neither the site \times clone interaction effect. We found also that clone 162 stems were significantly less vulnerable to cavitation than stems of the other two clones.

The same analysis of variance conducted separately in both sites demonstrated that the clone effect was significant only in Lartimache. Through the analysis of $PLC_{50\psi}$ we found significant (Table 2) site and clone effects. The site \times clone interaction effect was not significant (Table 2).

Table 2
Results of fixed effect analysis of variance (associated probability) for site, clone and site \times clone interaction for $PLC_{50\psi}$ and PLC_{50B}

Variable	d.f.	$PLC_{50\psi}$	PLC_{50B}
Site	1	0.8769	0.0014**
Clone	2	0.0007***	2.8497***
Site \times clone	2	0.1032	0.8699

d.f.: degrees of freedom. Sig. level: * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$.

4.3. Axial specific hydraulic conductivity (K_s)

Transversal cuts of the sample in the area where needle was inserted permitted us to verify that there was no lateral movement of dye (Phloxine) during the measurement of K_s .

The K_s results presented in this work were analysed for the measurements conducted in the earlywood part of the ring only. Latewood conductivity was so low that it could not be accurately quantified with our method.

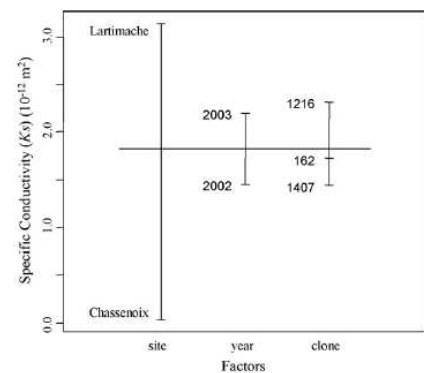


Fig. 6. Specific conductivity (K_s) according to the sources of variation. The horizontal solid line represents the K_s overall mean for the two sites, two years and three clones. Site is the source with the greater variation. K_s in Chassenoix was a hundred times lower than in Lartimache. Even if the other two sources of variation (year and clone) seem to be less important significant differences were found between years in both sites ($P < 0.001$) and among clones in Chassenoix for both years ($P = 0.01$ and $P < 0.001$ for the years 2002 and 2003, respectively) and in Lartimache only for year 2002 ($P < 0.05$).

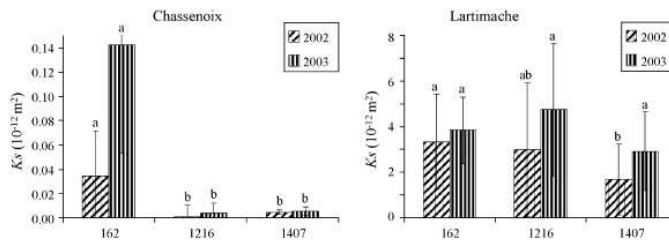


Fig. 7. Specific conductivity (K_s) per clone and per year in each site with standard-deviation bars showing the Kruskal–Wallis grouping. Different letters show groups with significant differences ($P < 0.05$).

The main source of variation for K_s measured in the earlywood of the rings 2002 and 2003 in Douglas-fir was the site (Fig. 6).

The Kruskal–Wallis non-parametric analysis of variance showed strongly significant differences between sites ($P < 0.001$) and between years in both sites ($P < 0.001$). There were significant differences among clones in Chassenoix for both years ($P = 0.01$ and $P < 0.001$ for the years 2002 and 2003, respectively) and in Lartimache only for year 2002 ($P < 0.05$). In Chassenoix, the site more affected by the 2003 drought and heat wave, the clone 162 (selected for its slow growth and high wood density) showed significantly higher K_s than clones 1216 and 1407 in 2002 and 2003 (Fig. 7).

The difference was spectacularly high in 2003, with the K_s of clone 162 being more than a hundred times higher than the K_s of clones 1216 and 1407.

5. Discussion

Up to now, most VC curves published for woody plants and for Douglas-fir in particular were obtained from measurements obtained on seedlings and on branches and roots (Cochard, 1992; Sperry and Ikeda, 1997; Kavanagh et al., 1999). As far as we know, little information is available from direct measures obtained on stem xylem of mature trees (Domec and Gartner, 2003). Our measurements of PLC50, achieved on wood samples collected on relatively mature (22-year-old) trees, are consistent with those by other authors (Domec and Gartner, 2001) for the same species. We agree with these authors in the fact that branches are significantly less vulnerable than stems. The values that we measured for PLC50_s and PLC50_b are both higher than those measured by Stout and Sala (2003) and by Kavanagh et al. (1999), who used seedlings or saplings or terminal shoots on adult trees. Moreover, these authors used different methods of embolism induction and of measurement than the ones we used during this study. In spite of these differences, we all found that stem xylem is the most vulnerable part of Douglas-fir aerial parts. Branch wood is formed of shorter, narrower tracheary elements and is thus generally denser than stem wood (Gartner, 1995). These different anatomical characteristics could confer differential hydraulic properties to branch wood, explaining at least a part of the observed difference.

Analyzing PLC50 data, we found that the site effect was significant for PLC50_b but not for PLC50_s. In contrast, we found significant differences among clones for both traits, with no significant genotype-by-environment interaction. The analysis of variance conducted for PLC50_s separately in both sites demonstrated that the clone effect was significant only in Lartimache (not shown here). According to this result, in Lartimache, the clone 162 was the most resistant to cavitation while the clone 1216 was the most vulnerable. In Chassenoix, while not significant, the same tendency was observed. PLC50_b shows also that clone 1216 is the most vulnerable in both sites.

The other xylem hydraulic property measured in this study is K_s . We used a novel and useful method, permitting to compare K_s between year-rings 2002 and 2003. The introduction of coloured water showed no evidence of radial movement. This is consistent with the fact that, in conifers, most inter-tracheid pits are on radial rather than tangential cell walls, facilitating water movement within a growth ring but limiting it between growth rings (Domec et al., 2005). To our opinion, this demonstrates that rings are hydraulically isolated, at least for the short distance between samples' ends.

Only earlywood K_s measurements were analysed. Attempts to measure K_s in latewood confirmed that, as already shown by Domec and Gartner (2002a,b), latewood conductivity could be neglected compared to earlywood conductivity in Douglas-fir.

Conductivity measured in Lartimache was comparable to the one measured by other authors (Domec and Gartner, 2002a,b). The conductivity measured in Chassenoix was a hundred times smaller ($3.2 \pm 6.3 \times 10^{-14} \text{ m}^2$), even smaller than the one measured by Domec and Gartner (2002a,b) in latewood; this suggests that an important proportion of tracheids in the Chassenoix wood samples were already embolised at the date of sample collection. This is certainly a direct consequence of the 2003 heat and drought wave, which was found to be much more intense in Chassenoix than in Lartimache. The twig mortality observed in Chassenoix was certainly related to this embolisation. In Chassenoix, the effect of climate was probably accentuated by the sandy nature of the soil, much drier than in Lartimache. These findings suggest that the results in Chassenoix and Lartimache should be differently interpreted. In Lartimache, the conduction properties of the xylem of the collected samples were probably preserved after the 2003 heat and drought wave. The VC curves and the K_s measurements can thus be reliably interpretable in this site as inherent properties of the observed trees.

The results of the analysis of PLC50_b, PLC50_s and K_s in Lartimache demonstrate that there is most of the time, a significant clone effect for these variables, except for K_s in ring 2003. The increased resistance to cavitation of clone 162 goes together with a lower growth rate in both sites (Fig. 1). Moreover clone 162 shows a tendency to produce wider rings in Chassenoix than in Lartimache (Fig. 4a) contrary to clone 1407 that presents wider rings in Lartimache and to clone 1216 that presents equal ring width in both sites. In Lartimache, K_s was significantly higher in 2003 (Fig. 6). In a first approach, this may seem contradictory with the higher densities (MRD, MID and MAD) measured in year-ring 2003 compared to year-ring 2002. Tracheary elements with narrower lumens and thicker cell walls corresponding to higher MRD, MID and MAD are expected to be less conductive. But in 2003 atmospheric demand was much higher than in 2002. Thus an unknown proportion of tracheids may have been embolised in year-rings 2002 and 2003. Because the lower density of year-ring 2002 is likely to make it more vulnerable to cavitation, the proportion of embolised tracheids could have been higher in year-ring 2002 than

in year-ring 2003, leading finally to a higher measured conductivity in year-ring 2003 in Lartimache. Such a hypothetical elucidation requires for validation new accurate observations, like direct measurement of embolisation rates in the different year-rings. We think also that refilling experiments under pressure could have also helped elucidating this. Refilling experiments measure potential specific conductivity, while our experiment measures native specific conductivity: the difference between both types of measurements would estimate the cavitation rate.

In Chassenois there was a significant clone effect for K_s . The conductivity of clone 162 was more than a hundred times higher than the conductivity of the other two clones. This suggests that this clone suffered much less embolism than the other two. This observation is strongly supported by the fact that, according to the results obtained in Lartimache, the clone 162 is more resistant to cavitation. In Chassenois, the observed range of variation for K_s was very different than in Lartimache. Most part of the observed variation was more likely explained by the proportion of embolised tracheids rather than by the native conductivity of the wood. On the other hand, K_s results could be also affected by the fact that we measured always in the same area determined by the needle's diameter. The needle was pricked in earlywood only. Nevertheless there are some anatomy variations within earlywood, as well as a more or less gradual transition from earlywood to latewood. The transition zone between earlywood to latewood may have affected the K_s measurements in the smaller rings.

The results of the microdensity analysis show that the clone 162 has also the highest MRD and MID among the three studied clones. These results support the idea proposed by several authors (Tyree et al., 1994; Stratton et al., 2000; Hacke et al., 2001a; Cruziat et al., 2002; Bucci et al., 2004), that thicker cell walls and smaller diameter lumens, corresponding to higher density wood, increase resistance to drought-induced cavitation and thus help trees to protect their hydraulic system. Our demonstration of the existence of a significant clone effect for $PLC50_s$, $PLC50_b$ and K_s strongly supports the idea that there exists a genetic control for resistance to cavitation and for conductivity in Douglas-fir. The well-known existence of a high genetic control for wood density (Zobel and Jett, 1995) also supports this idea. Such a genetic control indicates that there is, in the Douglas-fir populations introduced in France, a potential to adapt to extreme climate events like the 2003 heat and drought wave. This potential could be used in the frame of the Douglas-fir breeding program to select for more drought-resistant genotypes. This is important in the frame of the global climate change, for which an increase of the frequency and of the severity of drought waves is forecasted. Further investigations on larger tree populations are necessary to confirm these trends and to precisely estimate the degree of this genetic control. Because direct measurement of hydraulic traits is expensive, destructive and time consuming, it seems necessary, now, to precisely investigate on large, genetically structured populations, the relationships between, on one hand, resistance to cavitation and conductivity and, on the other hand, tracheid radial dimensions depicted by anatomy and/or microdensity observations.

6. Conclusions

Our results support the opinion that there is a relationship between wood density and wood hydraulic properties. Moreover, these results demonstrate that among the three selected clones of the study, the most resistant to cavitation is the one with the highest mean and minimum ring density.

The results of our study support the idea that genetic variation of wood density components has, to some extent, an adaptive meaning: under extreme drought conditions, Douglas-fir trees with

a higher wood density have a higher probability to survive than trees with a lower density. Since variation of wood density components is from moderately to highly genetically controlled, extreme droughts may be regarded as selection events tending to increase the wood density and thus the resistance to drought of future Douglas-fir generations. To what extent this adaptation potential is compatible with the on-going global climate change? Studies recording longer-term response of Douglas-fir trees of variable genetic origins, including rates of mortality under changing environmental conditions are the required next steps to try to answer this question.

Acknowledgements

This research was partly funded by Project Alfa II-266 GEMA (Genética de la Madera), supported by the European Commission. Genetic material that was used in this study was provided by FCBA (formerly AFOCEL). We are grateful to INRA and INTA, particularly to Dr. T. Schlichter and Dr. L. Gallo. The authors gratefully acknowledge Leopoldo Sanchez for his helpful comments and support, Frédéric Millier for his valuable work and help and Jean-Yves Gauthry for his advice and help in the field.

References

- Aumann, C.A., Ford, E.D., 2006. Simulation of effects of wood microstructure on water transport. *Tree Physiology* 26, 285–301.
- Bacelar, E.A., Moutinho-Pereira, J.M., Gonçalves, B.C., Ferreira, H.F., Correia, C.M., 2007. Changes in growth, gas exchange, xylem hydraulic properties and water use efficiency of three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany* 60, 183–192.
- Barbu, I., Popa, I., 2003. Drought risk monitoring research program in Romanian forest. In: Impacts of the Drought and Heat in 2003 on Forest. Scientific Conference 17–19 November 2004, Freiburg, Germany, pp. 66–67.
- Bréda, N., Granier, A., Aussenac, G., 2004. La sécheresse de 2003 dans le contexte climatique des 54 dernières années: analyse écophysologique et influences sur les arbres forestiers. *Revue Forestière Française* 56, 109–131.
- Bréda, N., Huc, R., Granier, A., Dreyer, E., 2006. Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences, review. *Annals of Forest Sciences* 63, 625–644.
- Bucci, S., Goldstein, G., Meinzer, F., Scholz, F., Franco, A., Bustamante, M., 2004. Functional convergence in hydraulic architecture and water relations of tropical savanna trees: from leaf to whole plant. *Tree Physiology* 24, 891–899.
- Cochard, H., 1992. Vulnerability of several conifers to air embolism. *Tree Physiology* 11, 73–83.
- Cochard, H., 2002. A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures. *Plant, Cell and Environment* 25, 815–819.
- Cochard, H., Damour, G., Bodet, C., Tharwat, I., Poirier, M., Améglio, T., 2005. Evaluation of a new centrifuge technique for rapid generation of xylem vulnerability curves. *Physiologia Plantarum* 124, 410–418.
- Cruziat, P., Cochard, H., Améglio, T., 2002. The hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals of Forest Sciences* 59, 723–752.
- De Martonne, E., 1926. L'indice d'aridité. *Bulletin de l'Association des géographes français*, 9, pp. 3–5.
- Département de la Santé des Forêts, 2004. Sécheresse et canicule de l'été 2003. Quelle incidence visuelle sur les peuplements forestiers? Information Santé des Forêt, http://www.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/isfweb_long.pdf, 8 p.
- Domec, J.C., Gartner, B.L., 2001. Cavitation and water storage in bole segments of mature and young Douglas-fir trees. *Trees* 15, 204–214.
- Domec, J.C., Gartner, B.L., 2002a. How do water storage differ in coniferous earlywood and latewood? *Journal of Experimental Botany* 53, 2369–2379.
- Domec, J.C., Gartner, B.L., 2002b. Age- and position-related changes in hydraulic versus mechanical dysfunction of xylem: inferring the design criteria for Douglas-fir wood structure. *Tree Physiology* 22, 91–104.
- Domec, J.-C., Gartner, B.L., 2003. Relationship between growth rates and xylem hydraulic characteristics in young, mature and old-growth ponderosa pine trees. *Plant Cell Environment* 26, 471–483.
- Domec, J.-C., Meinzer, F.C., Gartner, B.L., Woodruff, D., 2005. Transpiration-induced axial and radial tension gradients in trunks of Douglas-fir trees. *Tree Physiology* 26, 275–284.
- Edwards, W., Jarvis, P., 1982. Relations between water content, potential and permeability in stems of conifers. *Plant Cell and Environment* 5, 271–277.
- Gartner, B.L., 1995. *Plant Stems: Physiology and Functional Morphology*. Academic Press, San Diego, 440 pp.
- Guay, R., Gagnon, R., Morin, H., 1992. A new automatic and interactive tree ring measurement system based on a line scan camera. *The Forestry Chronicle* 68, 138–141.

- Hacke, U., Sperry, J., Pockman, W., Davis, S., Mc Culloh, K., 2001a. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126, 457–461.
- Hacke, U., Stiller, V., Sperry, J., Pittermann, J., Culloh, K., 2001b. Cavitation Fatigue. Embolism and refilling cycles can weaken the cavitation resistance of xylem. *Plant Physiology* 125, 779–786.
- Kavanagh, K.L., Bond, B.J., Aitken, S.N., Gartner, B.L., Knowe, S., 1999. Shoot and root vulnerability to xylem cavitation in four populations of Douglas-fir seedlings. *Tree Physiology* 19, 31–37.
- Levinson, D.H., Waple, A.M., 2004. State of the Climate in 2003. *Bulletin of the American Meteorological Society* 85, p. 72.
- Martinez Meier, A., Sanchez, L., DallaSalda, G., Pastorino, M.J., Gautry, J.Y., Gallo, L.A., Rozenberg, P., 2008. Genetic control of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) tree-ring response to the 2003 heat-wave in France. *Annals of Forest Sciences* 65, 1. Available in: www.afs-journal.org.
- McDowell, N., Pockman, W.T., Allen, C.D., Breshears, D.D., Cobb, N., Kolb, T., Plaut, J., Sperry, J., West, A., Williams, D.G., Yepez, E.A., 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist* 178, 719–739.
- McElrone, A.J., Pockman, W.T., Martínez-Vilalta, J., Jackson, R.B., 2004. Variation in xylem structure and function in stems and roots of trees to 20 m depth. *New Phytologist* 163, 507–517.
- Meehl, G., Tebaldi, C., 2004. More intensive, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st Century. *Science* 305, 994.
- Pittermann, J., Sperry, J.S., Wheeler, J.K., Hacke, U.G., Sikkema, E.H., 2006. Mechanical reinforcement of tracheids compromises the hydraulic efficiency of conifer xylem. *Plant, Cell & Environment* 29, 1618–1628.
- Polge, H., 1966. Etablissement des courbes de variations de la densité du bois par exploration densitométrique de radiographies d'échantillons prélevés à la tarière sur des arbres vivants. Application dans les domaines technologiques et physiologiques. Thèse de doctorat, Université de Nancy, 215p.
- R Development Core Team, 2007. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org>.
- Rathgeber, C.B.K., Decoux, V., Leban, J.-M., 2006. Linking intra-tree-ring wood density variations and tracheid anatomical characteristics in Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). *Annals of Forest Science* 63, 699–706.
- Rebetez, M., Mayer, H., Dupont, O., Schindler, D., Gartner, K., Kropp, J.P., Menzel, A., 2006. Heat and drought 2003 in Europe: a climate synthesis. *Annals of Forest Science* 63, 569–577.
- Rozenberg, P., Pâques, L., 2004. Evidence of the effect of the climate of year 2003 on Douglas-fir and larch wood formation in France. In: proceedings of conference "Impacts of the Drought and Heat in 2003 on Forests". Scientific Conference 17–19 November 2004, Freiburg, Germany, 57, 38.
- Sperry, J.S., Ikeda, T., 1997. Xylem cavitation in roots and stems of Douglas-fir and white fir. *Tree Physiology* 17, 275–280.
- Sperry, J.S., Hacke, U.G., Pittermann, J., 2006. Size and function in conifer tracheids and angiosperms vessels. *American Journal of Botany* 93, 1490–1500.
- Sperry, J.S., Tyree, M.T., 1990. Water-stress-induced xylem embolism in three species of conifers. *Plant, Cell & Environment* 13, 427–436.
- Sperry, J.S., Donnelly, J.R., Tyree, M.T., 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell & Environment* 11, 35–40.
- Stratton, L., Goldstein, G., Meinzer, F., 2000. Stem water storage capacity and efficiency of water transport: their functional significance in a Hawaiian dry forest. *Plant, Cell & Environment* 23, 99–106.
- Stout, D.L., Sala, A., 2003. Xylem vulnerability to cavitation in *Pseudotsuga menziesii* and *pinus ponderosa* from contrasting habitats. *Tree Physiology* 23, 43–50.
- Tyree, M.T., Ewers, F.W., 1991. *Tansley Review 34. The hydraulic architecture of trees and other woody plants*. *New Phytologist* 119, 345–360.
- Tyree, M., Kolb, K., Rood, S., Patiño, S., 1994. Vulnerability to drought-induced cavitation of riparian cottonwoods in Alberta: a possible factor in the decline of the ecosystem? *Tree Physiology* 14, 455–466.
- Zimmermann, M.H., 1983. *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Springer-Verlag, New York, USA, p. 143.
- Zobel, B.J., Jett, J.B., 1995. *Genetics of Wood Production*. Springer-Verlag, New York.
- Zobel, B.J., van Buijtenen, J., 1989. *Wood Variation its Causes and Control*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, Germany, 363 pp.

Résumé

Des fortes contraintes hydriques, comme celles qui ont accompagné la canicule qui s'est produite en Europe pendant l'été 2003, ont soumis les arbres à de forts ajustements fonctionnels et physiologiques, en limitant non seulement la croissance mais aussi en affectant leur survie. On s'attend à ce que des limitations de la disponibilité de l'eau pendant la saison de végétation des arbres, deviennent plus intenses et fréquentes, ce qui pose beaucoup de questions pour l'avenir des écosystèmes forestiers et leur capacité d'adaptation. Puisque le processus de changement climatique est directionnel et rapide, et la durée de vie des arbres est longue, la plasticité phénotypique devrait jouer un rôle primordial, conduisant les arbres à ajuster leur fonctionnement au nouveau contexte climatique. Le douglas (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Mirb.) Franco), notre espèce d'étude, est une espèce très productive. Ses exigences écologiques et les symptômes observés chez le douglas après la canicule de 2003 font de celui-ci une espèce appropriée pour étudier la réponse des arbres aux déficits hydriques auxquels seront exposés la plupart d'eux dans un futur proche. Le bois est un tissu intégrateur de multiples processus que nous avons utilisé pour étudier comment les arbres peuvent s'acclimater et s'adapter aux contraintes du milieu. Certaines propriétés de base comme la densité sont en rapport avec des processus fonctionnels adaptatifs liés à la structure du xylème et donc sont importantes pour la survie. La densité est la conséquence de l'activité cambiale qui elle-même répond aux variations de l'environnement. La densité a été impliquée, chez le douglas, dans la capacité à survivre à la canicule de 2003. Les arbres qui ont survécu ont une densité du tronc plus élevée que ceux qui sont morts. Les arbres vivants ont formé des cernes avec une densité plus élevée que des arbres morts, ce durant plusieurs années avant la canicule 2003. Le cerne 2003 montre que le douglas s'est acclimaté en arrêtant sa croissance de manière exceptionnellement précoce cette année-là. Au travers d'une approche innovante, il a été possible de mettre en relation les variations de la densité du bois à l'intérieur du cerne avec les variations du climat. Ces variations de densité ont été interprétées comme des réponses de l'arbre aux limitations en eau pendant la saison de végétation, autrement dit, comme une mesure de sa plasticité phénotypique (**dendroplasticité**). Des dispositifs clonaux nous ont permis d'étudier la variation génétique de la réponse des arbres à la canicule et de la dendroplasticité et de la comparer avec celle des variables de microdensité. Les profils de microdensité ont été largement utilisés dans des programmes d'amélioration génétique pour la sélection d'arbres avec des caractéristiques de densité désirables. Nous montrons comment les profils microdensitométriques peuvent être utilisés pour prédire la capacité de survie du douglas aux contraintes du climat en permettant donc d'intégrer des caractères morphométriques, physiologiques et d'adaptation aux contraintes abiotiques.

Mots-clés : Densité du bois ; Profils de microdensité ; rayon X ; *Pseudotsuga menziesii* ; Génétique ; Changement climatique ; Adaptation ; Résistance à la sécheresse

Résumé en anglais

Strong hydrological constraints, as those which accompanied the heat and drought wave which occurred in Europe during the summer 2003, affected the trees to strong functional and physiological adjustments, by limiting not only growth but also by affecting their survival. It is expected that limitations in water availability during trees' growing season will become more intense and frequent, arising many questions for the future forest ecosystems and their adaptation. Since the process of climate change is directional and fast, and the time frame of the trees is long, phenotypic plasticity should play a central role in the capacity of trees to adjust with the new climatic context. Our species of study, Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Mirb.) Franco) is a highly productive species. Its ecological requirements and its symptoms presented after the heat wave of 2003, make of Douglas-fir an appropriate species well adapted for the study of the trees response to water deficit to which will be exposed the majority of them in a near. Wood is a tissue integrating multiple processes, which we used to study how trees can acclimate and adapt to environmental constraints. Certain basic properties as density are related to adaptive functional processes related to xylem structure and thus are important for survival. Density is the consequence of cambial activity which itself responds to the variations of environment. Wood density was implied in the capacity of Douglas-fir trees to survive to the 2003 heat wave. The trees which survived have a higher trunk density than those which died. Surviving trees formed higher density rings than dead trees during several years before the 2003 heat wave. The ring 2003 shows that Douglas-fir acclimated itself by stopping its growth exceptionally early that year. Through an innovating approach, it was possible to connect the intra-ring density variations with the climate variations. These density variations were interpreted as tree response to water deficit during the growing season, in other words, as a measurement of its phenotypic plasticity (**dendroplasticity**). Clonal tests enabled us to study genetic variation of tree response to the heat wave and thus of dendroplasticity and also to compare it with genetic variation of microdensity variables. Microdensity profiles were largely used in genetic improvement programs for the selection of trees with desirable density characteristics. We show how microdensity profiles can be used to predict the survival capacity of Douglas-fir trees to climatic constraints allowing thus to integrate morphometric, physiological and adaptation to abiotic constraints characters.

Key words: Wood density; Microdensity profiles, x-ray; *Pseudotsuga menziesii*; Genetics; Climate change; Adaptation; Drought resistant.