

Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :

Dynamique des fluides

Présentée et soutenue par :

Mme MARIE CAPRON

le jeudi 3 avril 2014

Titre :

COUPLAGE FLUIDE-STRUCTURE DANS L'EMBOLIE GAZEUSE DU
PEUPLIER

Ecole doctorale :

Mécanique, Energétique, Génie civil, Procédés (MEGeP)

Unité de recherche :

Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse (I.M.F.T.)

Directeur(s) de Thèse :

M. PHILIPPE TORDJEMAN

M. FRANÇOIS CHARRU

Rapporteurs :

M. JOSEPH GRIL, UNIVERSITE MONTPELLIER 2

M. PHILIPPE MARMOTTANT, UNIVERSITE GRENOBLE 1

Membre(s) du jury :

Mme ANKE LINDNER, ESPCI PARIS, Président

M. FRANÇOIS CHARRU, UNIVERSITE TOULOUSE 3, Membre

M. HERVE COCHARD, INRA CLERMONT FERRAND, Membre

M. PHILIPPE TORDJEMAN, INP TOULOUSE, Membre

Remerciements

Je souhaite remercier mes deux directeurs de thèse Philippe Tordjeman et François Charru pour m'avoir confié le sujet de cette thèse et guidée dans sa réalisation. Vous m'avez permis d'apprécier vos qualités de recherches et d'enseignement et fait profiter de l'étendue de vos connaissances.

Je tiens à remercier Joseph Gril et Philippe Marmottant pour avoir été mes rapporteurs et pour le temps passé à lire et à commenter mon manuscrit. Je remercie également Je remercie également Anke Lindner qui avec beaucoup de gentillesse et de cordialité a accepté de présider mon jury de thèse et Hervé Cochard pour avoir fait parti de mon jury de thèse.

Je remercie l'ANR-Pitbulle pour avoir financé ma thèse pendant ces trois années ainsi que l'Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse pour m'avoir accueillie et plus particulièrement le groupe Interface. Je souhaite particulièrement remercier Marie-Hélène qui m'a aidée pendant toute la durée de ma thèse pour les différentes démarches administratives. Je tiens à remercier Grégory Ehses, les membres de l'atelier et le service signaux et images pour leurs compétences techniques qui ont contribué à faciliter mes expérimentations. Je vous remercie pour votre contribution à la réalisation de cette thèse. Je souhaite remercier les permanents de l'équipe pour m'avoir accueillie durant cette période comme leur égale. Soyez assurés de mon attachement et de ma profonde reconnaissance.

Je souhaite remercier Aude Tixier, Eric Badel et Hervé Cochard de l'INRA de Clermont-Ferrand et Thierry Ondarçu du CEMES pour m'avoir permis de réaliser des expériences dans leurs laboratoires respectifs.

Je tiens aussi à remercier Richard Arinero et John Sherwood avec qui j'ai eu des discussions fructueuses.

Je vous remercie pour votre collaboration, la gentillesse de votre accueil, votre aide efficace, l'intérêt que vous avez apporté à mon travail de thèse.

Je souhaite remercier mes parents pour m'avoir accompagnée et encouragée durant ma thèse ainsi que pendant l'ensemble de mes études. Je tiens à les remercier de m'avoir donné le goût d'apprendre et la curiosité nécessaire à la recherche. Je remercie les autres membres de ma famille : Busière, Capron, Hermant, Hammami, Longelin, Biller, Anicot. Avec mon affection.

Je tiens à remercier l'ensemble de mes amis. Dans un premier temps, mes amis du laboratoire qui étaient présents à côté de moi pendant ces trois ans :

Mélanie pour son amitié, le thé du mardi après-midi, les sorties ski et pour tout le reste ; Yohann pour sa connaissance sportive et Arthur qui vient embellir cette super famille. Je souhaite à remercier Thomas pour sa présence et son écoute depuis plus de trois ans, pour sa patience au tennis, pour l'organisation des tournois de ping-pong et pétanque et pour le TFC ; merci d'être revenu d'Irlande pour ma soutenance. Je remercie mes amis qui ont partagé avec moi le bureau 201 alias le bureau du fun : Michael qui a été là du début à la fin et avec qui j'ai vécu de nombreuses aventures, Carlos et Katya pour m'avoir fait découvrir le Mexique, Auriane pour la couture et les lapins, ma stagiaire Aminata et Grégory qui m'a soutenue et fait rigoler pendant la fin de ma thèse. Je souhaite remercier : René et Adriana et leurs familles qui m'ont permis de faire un break mexicain au cours de ces trois années de travail et pour leurs progrès en ski, Audrey pour le temps passé en dehors du labo et les soirées, Elise pour les jeux de société, la lozère avec son accent et son kayak, Lucia qui m'a suivie au roller, Greg pour ses blagues, Jérôme pour le cross-country et la slack-line, Jean-Lou pour avoir été un double exceptionnel au tennis, Romain pour la pétanque, Agathe pour son végétarisme, Joel pour les discussions footballistiques, Julien, Benjamin, Bernard, Cédric, Vincent, Luigi, Fernando, Matthieu, Mithlesh, Emmanuella, Erick, Yuri, Marine, Roberta, Marco, Nicolas, Michel, Manel, Iris, Van-Thin, Florian, Paul.

Je souhaite remercier mes amis du roller qui m'ont aidée à garder un lien avec la vie hors de la mécanique des fluides : Vanessa pour sa gentillesse, Lolla pour ses coups d'épaules, Julie pour son humour, Elisa pour sa culture cinématographique, Antoinette pour sa jeunesse, Anne pour son esprit bohème, Cathy pour sa sagesse et les coachs Nicolas, Mathilde et Thomas.

Je tiens à remercier mes amis d'école Marie-Hélène, les Laetitia, Mélanie, Simon et Quentin pour leur amitié.

Je souhaite remercier les copains de la prépa Olivier, Jérémie et plus particulièrement Adrien qui m'a encouragée à me lancer dans la recherche, pour ses bons conseils et sa culture.

Et pour finir, je souhaite remercier mes amis de très longue date d'Amiens : Mélanie, Gaëlle, Marion, Marie, Jérôme et Thomas.

Je n'oublie pas la génération des "anciens" Madame Fernet, la famille Legrand, Martine et Philippe, Claire et Cécile, la famille Barral tous ceux qui s'informaient de l'avancée de mon travail et qui m'encourageaient, je vous transmets un amical remerciement.

Table des matières

1	Introduction	1
2	Physique de l'arbre	5
2.1	Organisation vasculaire des plantes	6
2.2	La sève	11
2.2.1	La sève brute	11
2.2.2	La sève élaborée	13
2.3	Fluidique de l'arbre	13
2.3.1	Potentiel hydrique	14
2.3.2	Transport couplé entre le xylème et le phloème	15
2.4	Les arbres synthétiques	21
2.5	Conclusion	25
3	L'embolie des arbres	27
3.1	L'embolie dans les arbres	28
3.1.1	Limite de stabilité dans les plantes	28
3.1.2	Mesure du degré d'embolie : le cavitron	31
3.1.3	Rétablissement après embolisation - Cicatrisation	34
3.2	La cavitation	36
3.2.1	La cavitation dans le xylème	37
3.2.2	Dynamique de la bulle	39
3.3	Objectifs de la thèse	42
4	Structure et nano-mécanique d'une ponctuation	45
4.1	Etude bibliographique	46
4.2	Microscopie à force atomique	48
4.2.1	Principe	49
4.2.2	Appareillage : le microscope à force atomique	52
4.3	Caractérisation des ponctuations du peuplier	53
4.3.1	Le mode Tapping	54
4.3.2	Les pointes utilisées pour le mode tapping	58
4.3.3	Topographie de la surface	58
4.4	Nano-mécanique des ponctuations du peuplier	65
4.4.1	Mesures propriétés mécaniques locales	66
4.4.2	Expériences nano-mécaniques d'échantillons secs	72
4.4.3	Expérience de nano-mécanique des échantillons saturés en eau	83
4.5	Conclusion	86

5	Déformation des ponctuations : observations et modélisation	89
5.1	Comment observer expérimentalement la déformation des ponctuations ?	90
5.2	Observations expérimentales des déformations des ponctuations	94
5.2.1	Méthode d'injection	94
5.2.2	Distribution de longueur des vaisseaux	96
5.2.3	Déformées expérimentales des membranes primaires . .	100
5.2.4	Modélisation analytique	109
5.2.5	Modélisation par éléments finis des ponctuations	111
5.3	Conclusion	122
6	Fluidique dans le xylème	125
6.1	Etude bibliographique	126
6.2	Dynamique de l'imbibition d'une ponctuation	129
6.2.1	Technique d'injection	129
6.2.2	Observations	131
6.3	Perméabilité à l'air	133
6.3.1	Montage expérimental	133
6.3.2	Résultats	135
6.3.3	Modélisation	138
6.4	Conclusion	147
7	Conclusion	149
	Bibliographie	153

Introduction

Les arbres présentent un système vasculaire complexe qui est divisé en deux parties principales : le xylème et le phloème. Dans le xylème, la sève est aspirée des racines vers les feuilles afin d'assurer les réactions de la photosynthèse. Dans le phloème, la sève, chargée en nutriments, redescend vers les racines afin de consolider la croissance cellulaire. Des études récentes ont montré que la montée de sève vers les feuilles est contrôlée par des mécanismes de transpiration au niveau des stomates. La sève est alors aspirée vers les feuilles à des pressions négatives comprises entre -0.1 et -13 MPa. Sous ces pressions, la sève du xylème est dans un état métastable. Cet état thermodynamique est responsable de la cavitation dans les cellules qui s'accompagne d'une vaporisation de l'eau et d'une expansion de la phase gazeuse. Par ces mécanismes, les arbres peuvent subir une embolie gazeuse dans le xylème. Celle-ci est responsable d'une perte de conductivité hydraulique pouvant limiter la croissance des arbres et dans certains cas entraîner leur mort.

Les deux étapes critiques de l'embolie gazeuse dans les arbres sont la cavitation et l'écoulement gazeux intercellulaire au sein du xylème. Les mécanismes de cavitation ont fait l'objet d'un certain nombre d'études récentes et sont aujourd'hui bien compris. En revanche, les mécanismes de diffusion intercellulaire ont été très peu étudiés malgré l'intérêt scientifique et l'enjeu économique.

Cette thèse a pour objectif l'étude de l'écoulement gazeux au sein des cellules du xylème. Ces dernières sont connectées entre elles par de fines membranes appelées ponctuations (pits). L'objectif de ce travail est précisément d'étudier et comprendre le rôle de ces ponctuations dans l'écoulement gazeux. Nous montrerons dans ce manuscrit que la diffusion de gaz est assurée par des mécanismes de "valves capillaires" caractérisées par la rupture de ménisques d'eau au sein des pores des ponctuations à une différence de pression critique.

Ce travail dont l'approche est interdisciplinaire repose sur la caractérisation des structures des ponctuations et des vaisseaux du xylème, sur la mesure des propriétés mécaniques des membranes des ponctuations et sur la mise au

point d'expériences de microfluidique in vivo.

Nous nous sommes concentrés sur l'étude d'une seule espèce de peupliers appelé *Populus deltoïdes* × *Populus nigra*. Ces arbres appartiennent au verger du PIAF (INRA-Clermont, France). L'ensemble du travail expérimental a été réalisé sur des branches de peuplier qui ont été prélevées aux printemps des années 2011, 12 et 13. Il est important d'intégrer que ces échantillons biologiques présentent par nature une certaine variabilité de structure et de composition.

Le manuscrit est organisé en sept chapitres. Dans un premier, il nous semblait important de décrire le fonctionnement des arbres d'un point de vue physique afin de mieux comprendre les mécanismes de l'embolie. Cette description physique des arbres est présentée au chapitre 2. L'étude de l'embolie gazeuse des arbres est détaillée au chapitre 3. Dans ce chapitre, nous avons eu la volonté de décrire l'état des connaissances de l'embolie des arbres afin de bien préciser les objectifs de ce travail.

La structure des ponctuations du peuplier a été caractérisée par microscopie optique, microscopie électronique à transmission et par microscopie à force atomique. Les propriétés mécaniques locales des ponctuations ont été mesurées en développant des expériences spécifiques de nano-indentation et nano-flexion au moyen d'un microscope à force atomique. Cette étude de la structure et des propriétés mécaniques des ponctuations est rassemblée dans le chapitre 4. Des expériences de micro-moulage des membranes de ponctuations déformées sous différence de pression ont été réalisées au laboratoire PIAF. Ces expériences analysées par des modélisations mécaniques analytiques et par éléments finis ont permis de conforter et valider les mesures des propriétés mécaniques locales des ponctuations par microscopie à force atomique. Ce travail expérimental et de modélisation est présenté au chapitre 5.

Enfin, l'étude de l'écoulement gazeux dans le xylème a pu être entreprise par la mise au point d'expériences de microfluidique décrites au chapitre 6 sur des branches de peuplier. Nous avons déterminé la pression critique d'écoulement gazeux qui permet une estimation indirecte de la taille des pores des membranes des ponctuations. Puis, nous avons mesuré les débits de gaz pour différentes pressions d'injection supérieures à la pression critique. L'écoulement gazeux dans le xylème a été modélisé en tenant compte du couplage entre le gaz et la structure de la membrane des ponctuations qui se déforme sous l'effet d'une différence de pression. Les propriétés mécaniques des membranes jouent ici un rôle fondamental dans la perméabilité au gaz des ponctuations.

Cette étude dont les principales conclusions sont rassemblées au chapitre 7, nous a amenés à proposer un modèle physique de l'embolie gazeuse du

peuplier basé sur un couplage entre fluide et structure.

Physique de l'arbre

Sommaire

2.1	Organisation vasculaire des plantes	6
2.2	La sève	11
2.2.1	La sève brute	11
2.2.2	La sève élaborée	13
2.3	Fluidique de l'arbre	13
2.3.1	Potentiel hydrique	14
2.3.2	Transport couplé entre le xylème et le phloème	15
2.4	Les arbres synthétiques	21
2.5	Conclusion	25

D'un point de vue physique, les plantes vertes sont des "machines" fonctionnant à partir d'énergie solaire, de dioxyde de carbone et d'eau. Récolter ces ingrédients dans leur environnement pose de nombreuses questions concernant les échanges et le transfert de masse. Les plantes doivent d'abord devenir des organismes multicellulaires étendus afin d'atteindre le ciel pour capturer la lumière du soleil et échanger du dioxyde de carbone et de l'oxygène avec l'atmosphère. La réaction de photosynthèse consomme de l'eau (lumière + $6H_2O + 6CO_2 \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2$). De plus l'exposition à l'air de la plante provoque une forte évaporation de l'eau. Les plantes génèrent tous les produits de la photosynthèse dans leurs feuilles. Elles doivent ensuite exporter ces produits dans le reste de leurs tissus pour favoriser leur croissance ou être stockés. Comme pour les autres organismes multicellulaires, les végétaux ont développé un système vasculaire complexe afin d'effectuer un transport convectif efficace sur de longues distances. Plutôt que d'utiliser de l'énergie pour un système de pompage, le mouvement ascendant de la sève des racines jusqu'aux feuilles est assuré par capillarité et par des gradients de pression ou de concentration. En revanche des mécanismes purement osmotiques permettent quant à eux l'écoulement descendant des sucres des feuilles jusque dans les différents tissus de l'arbre.

Ces procédés sont complexes puisqu'ils impliquent la manipulation de liquide dans des états thermodynamiques particuliers et le couplage de phénomènes physiques, chimiques et biologiques. La gestion de ces états et phénomènes particuliers joue un rôle central dans la définition de la physiologie et les fonctions des plantes vasculaires.

Comprendre la physique de l'arbre est pour nous un enjeu important. Nous allons dans un premier temps nous intéresser à l'organisation vasculaire complexe des plantes servant à la coordination des phénomènes de transport. Ensuite, nous verrons quels fluides circulent dans ce système hydraulique. Le fonctionnement de l'arbre sera ensuite présenté dans le but de comprendre comment circule la sève. Pour finir, la thermodynamique de l'arbre sera abordée à travers l'étude d'un modèle simplifié d'arbre synthétique. Ces arbres synthétiques reproduisent les mécanismes de transpiration des conditions thermodynamiques voisines de celles des plantes *in vivo* [Wheeler 2008]. Ils ont permis l'étude physique du transport de l'eau dans les arbres.

2.1 Organisation vasculaire des plantes

Les plantes sont composées de trois parties principales à savoir les tiges, les feuilles et les racines. Dans cette partie, nous allons proposer une description

des principaux éléments utilisés pour le transport de la sève. Nous donnons une description de la branche, l'organisation dans le tronc est identique. La figure 2.1 est une représentation schématique de ces éléments.

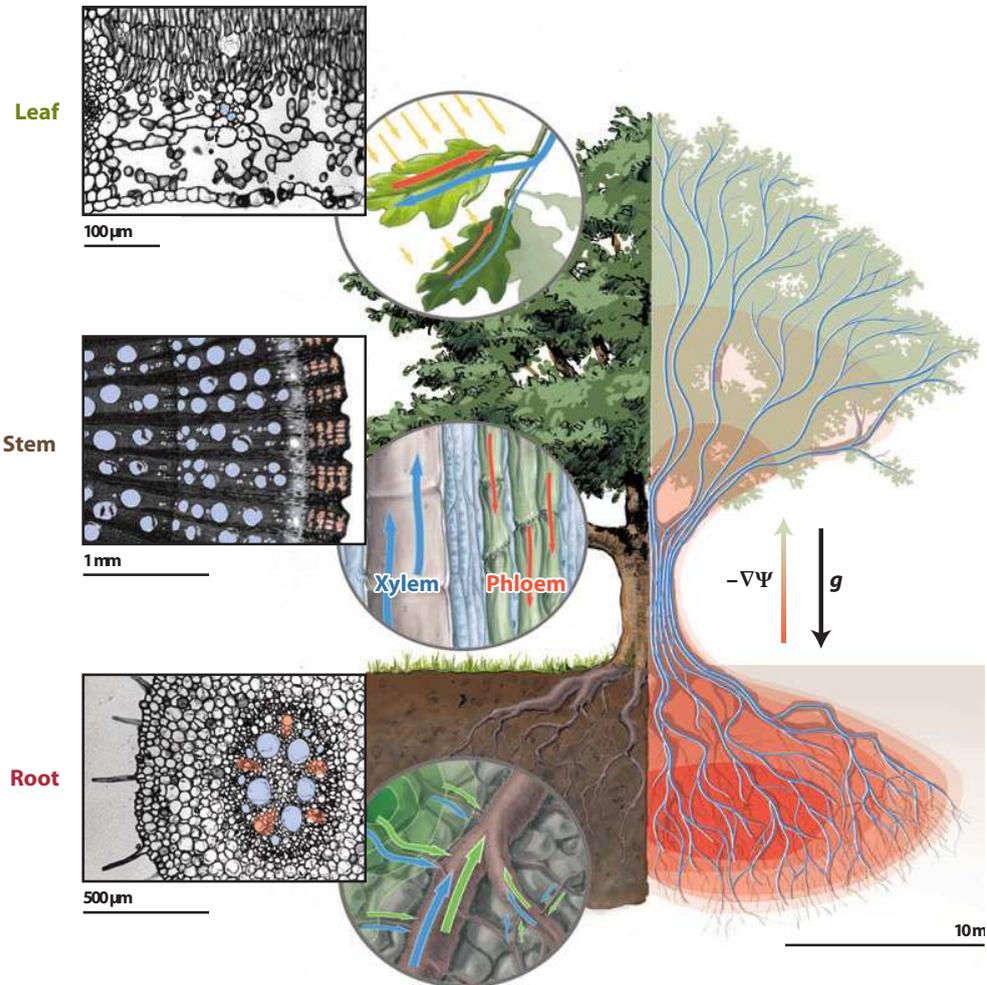


FIGURE 2.1 – Représentation du système vasculaire d'une plante. Dans le xylème, un courant ascendant de sève, composée essentiellement d'eau, circule des racines jusqu'aux feuilles. Un courant descendant de sève contenant essentiellement des sucres circule dans le phloème des feuilles jusqu'aux tissus de la plante. (Images incrustées) Coupes observées en microscopie optique d'une feuille, d'une branche et d'une racine avec le positionnement approximatif des vaisseaux du xylème en bleu et du phloème en orange. [Stroock 2014]

Les *branches* ont pour fonction principale de supporter le système de feuilles. Leur but premier est de positionner les feuilles pour qu'elles aient

un bon ensoleillement. Les branches sont composées de deux types de vaisseaux : le xylème et le phloème (Fig. 2.2). La sève circule dans ces vaisseaux.

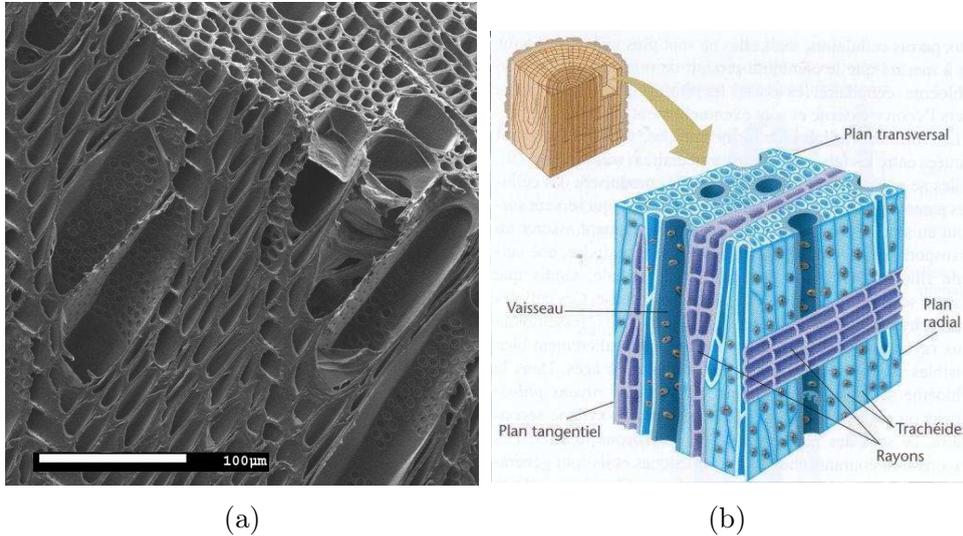


FIGURE 2.2 – Les éléments conducteurs du *Populus deltoides* × *Populus nigra* composés de vaisseaux et de ponctuations : (a) image obtenue en MEB ; (b) représentation schématique [Bouchet 2012].

Les *conduits du xylème* sont constitués de cellules mortes connectées en série. Le xylème se situe au centre des branches (Fig. 2.3).

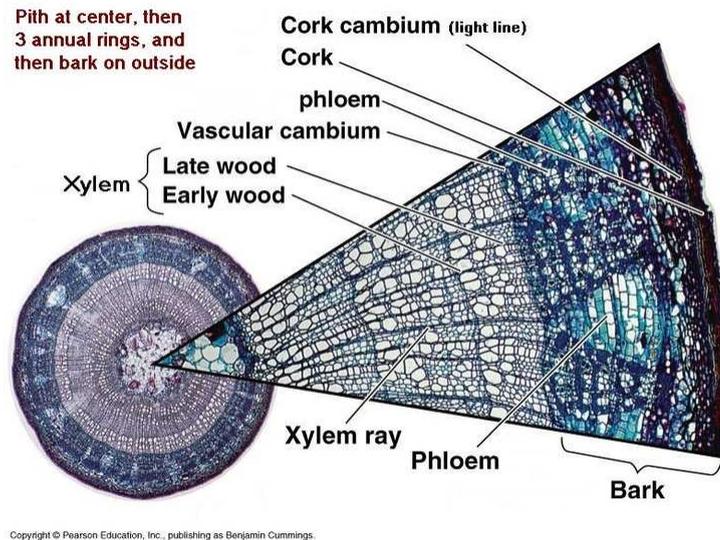


FIGURE 2.3 – Localisation des conduits du xylème dans la branche.

Lors des étapes de maturation, le contenu des cellules de xylème a été partiellement voir complètement dissous. Ces cellules se comportent tels de

longs capillaires utilisés pour le transport ascendant de la sève, des racines jusqu'aux feuilles. Selon les espèces, le diamètre interne de ces vaisseaux est compris entre 10 et 500 μm et leurs longueurs peuvent aller de un à plusieurs centimètres [Tyree 2001]. Les parois longitudinales sont recouvertes de lignine qui est imperméable. La sève ne peut passer d'un vaisseau à l'autre qu'au niveau des ponctuations (pits) constituées de fines membranes laissant passer les courants de sève. Elles sont organisées en chapelets au niveau de la zone de chevauchement entre deux vaisseaux voisins, nommée paroi terminale. Le principe de fonctionnement des vaisseaux du xylème est présenté sur la figure 2.4a. Une veine est composée de plusieurs cellules. Nous pouvons voir partiellement trois autres veines sur ce schéma simplifié. La zone de chevauchement ou paroi terminale de deux veines est recouverte de ponctuations (Fig. 2.4b).

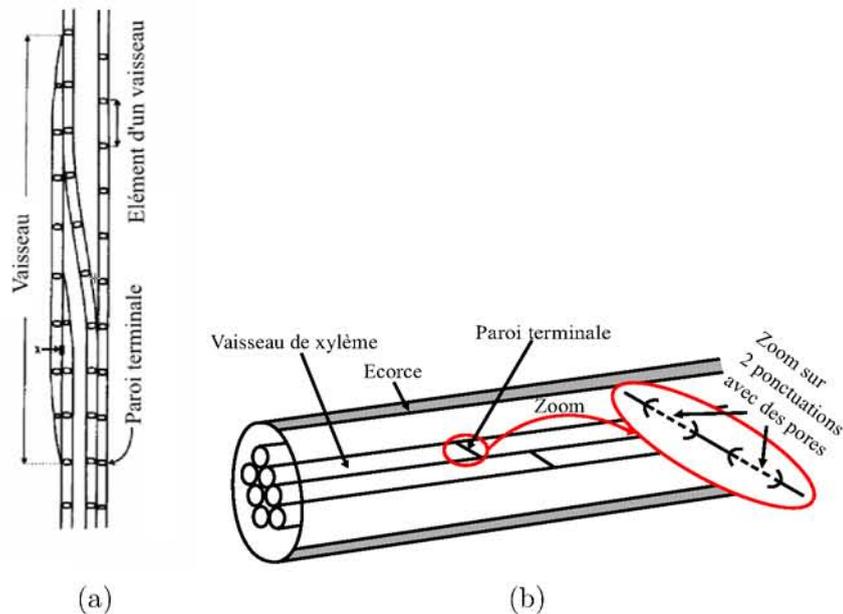


FIGURE 2.4 – Représentation schématisée du réseau de vaisseaux. Les veines ont une longueur finie, se chevauchant à leurs extrémités. L'eau circule d'une veine à l'autre latéralement à travers les ponctuations (a) [Tyree 2001]. Représentation schématisée du réseau microfluidique des plantes. Le champ de ponctuations se situant à l'extrémité des vaisseaux du xylème (b).

Les *conduits de phloème* se situent sur le pourtour des branches (Fig. 2.3). Ils sont formés par des volumes interconnectés de cellules vivantes. Ces conduits possèdent toujours leur contenu cellulaire contrairement aux vaisseaux de xylème. Les expériences de décortication, dont les premières furent réalisées par l'anglais Stephen Hales en 1726, ont montré que le phloème est composé de cellules très allongées, nommées tubes criblés. Ces tubes ont une longueur

comprise entre 0.1 à 1 mm et un diamètre de 10 à 40 μm . Un courant de sève descendant circule à travers ces tubes, des feuilles jusqu'aux différents organes de la plante. La sève traverse les vaisseaux du phloème au niveau de membranes poreuses, les cribles, dont les pores ont un diamètre compris entre 0.5 et 2 μm .

Les membranes des plantes assurent le processus de transport des fluides dans le système vasculaire. Ces membranes relient les cellules de xylème et de phloème les unes aux autres ainsi qu'aux phases extérieures. Elles peuvent être classées dans trois catégories : physique, osmotique ou active basées sur leurs fonctions physico-chimiques. Les membranes séparant deux vaisseaux sont de type physique, ce qui signifie qu'elles sont passives d'un point de vue biologique et sont traversées par des pores dont les diamètres sont trop élevés pour permettre la sélectivité chimique (le diamètre est supérieur à 1 nm). Les ponctuations sont constituées de membranes séparant les conduits de xylème au niveau de leurs parois terminales. Selon les espèces, elles ont un diamètre compris entre 1 et 15 μm et une épaisseur de un à plusieurs centaines de nanomètres [Sperry 2004]. Les ponctuations du xylème sont composées de deux parois : l'une, dite primaire, est mince et élastique, et l'autre dite secondaire, est épaisse, rigide et riche en cellulose (Fig. 2.5). La paroi primaire n'est pas composée des mêmes éléments chez les angiospermes et les conifères. Chez les angiospermes, cette paroi est uniforme (Fig. 2.5 colonne de droite) tandis que pour les conifères, la membrane est composée d'un torus qui est sa partie centrale épaissie (Fig. 2.5 colonne de gauche). Le torus est entouré par un réseau de micro-fibrilles, appelées marge du torus (*margo*), à travers laquelle la sève peut circuler.

Des membranes de type physique, nommées cloisons criblées, séparent aussi les tubes de phloème axialement. Elles ont une taille voisine de celle des ponctuations du xylème.

Les *feuilles* sont le site de la photosynthèse. Ce procédé met en jeu de la lumière, du CO_2 et de l'eau pour produire des glucoses et de l'oxygène. Pour les plantes vasculaires, l'énergie nécessaire au transport de la sève ascendante composée essentiellement d'eau est fournie par le soleil dont la chaleur vaporise l'eau liquide qui arrive dans les feuilles. La vapeur d'eau s'échappe par de petites ouvertures, nommées stomates, présentes à la surface des feuilles (Fig. 2.6).

La fonction principale des *racines* est de récupérer les nutriments minéraux et l'eau du sol. L'eau et les minéraux absorbés par les racines sont transportés dans les feuilles par les vaisseaux de xylème. Les racines servent aussi à sceller

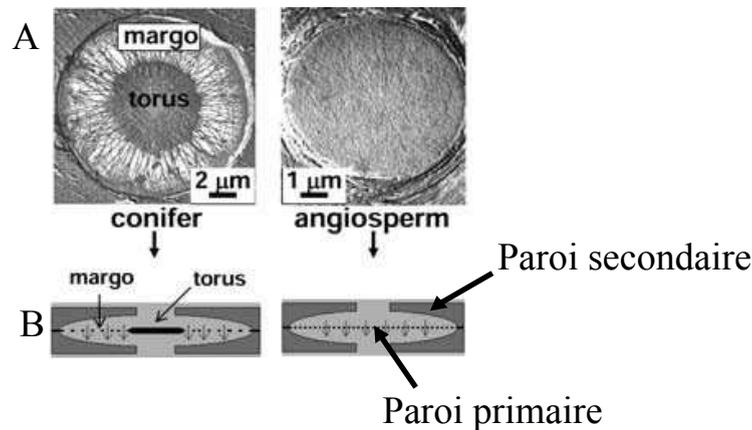


FIGURE 2.5 – Image en microscopie électronique à balayage de membranes de ponctuation où la paroi secondaire a été enlevée, à gauche, une membrane d’une ponctuation venant d’un conifère avec son torus et à droite, une membrane homogène d’une ponctuation venant d’un angiosperme (A). Représentation schématique d’une coupe transversale des ponctuations conductrices (B) [Pittermann 2005].

fermement la plante dans le sol.

2.2 La sève

L’eau, les substances nutritives, les déchets et les hormones sont, dans les plantes, véhiculés d’un organe à l’autre par deux courants : la sève brute et la sève élaborée.

2.2.1 La sève brute

La sève brute est le grand courant ascendant qui conduit aux feuilles, bourgeons et fleurs, l’eau et les substances minérales. C’est une solution diluée de sels minéraux qui contient des ions absorbés et les produits de la réduction des nitrates par la racine. Au cours de son déplacement, elle abandonne aux cellules traversées une partie de ses éléments minéraux et s’enrichit en composés organiques, mais ceux-ci sont toujours en faible quantité (de 0.2 à 0.5 g/L). Les composés organiques proviennent surtout des réserves accumulées dans les rayons médullaires du bois et sont utilisés à certaines saisons. Pour les végétaux vasculaires, la circulation de la sève brute a lieu dans les vaisseaux du xylème.

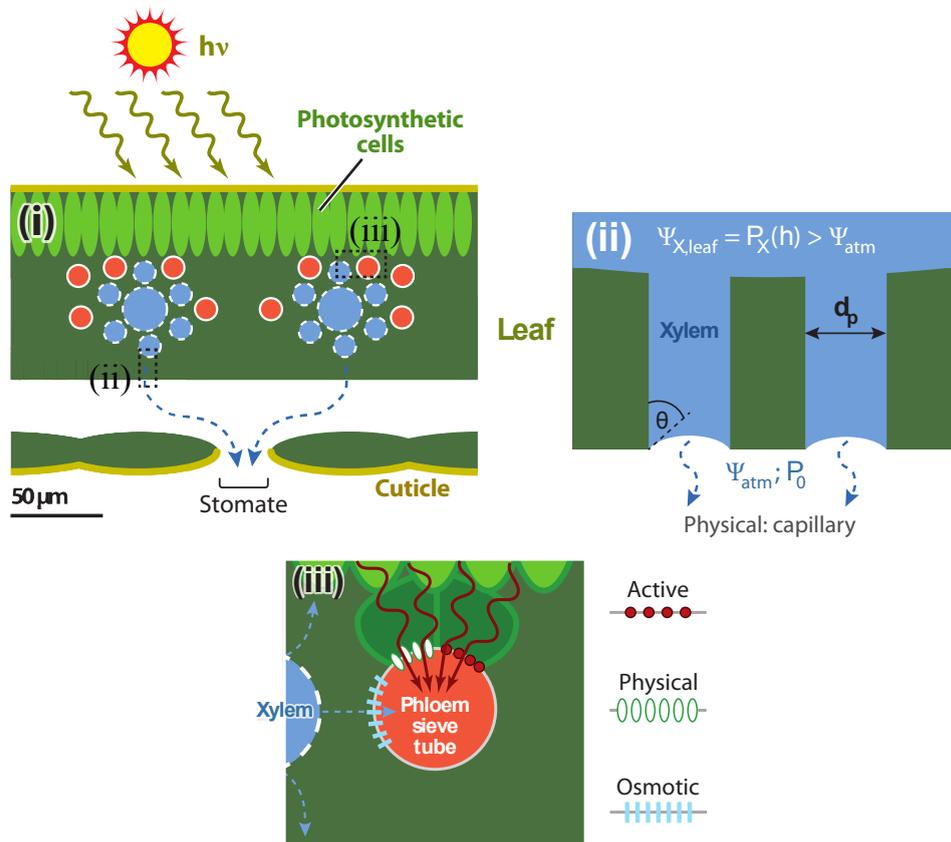


FIGURE 2.6 – La feuille est le siège de l'évaporation de la sève qui est transportée dans des vaisseaux du xylème (bleu) et de la photosynthèse. Les produits de la photosynthèse sont envoyés dans le phloème (orange) au niveau des feuilles. (i) L'eau contenue dans la sève s'évapore au niveau des stomates. (ii) L'évaporation se produit au niveau d'une membrane physique qui peut être représentée tel qu'un milieu poreux. (iii) Les sucres, produits de la photosynthèse, sont pompés dans les tubes de phloème à travers des membranes physiques et actives; l'eau est aspirée par une membrane osmotique dans les vaisseaux du xylème. [Stroock 2014].

2.2.2 La sève élaborée

Contrairement à la sève brute, la sève élaborée circule de manière surtout descendante mais aussi ascendante. Elle véhicule vers les lieux de mise en réserve ou d'utilisation les substances élaborées par les organes chlorophylliens responsables de la photosynthèse.

La sève élaborée est une solution colloïdale visqueuse, riche en substances organiques (de 5 à 20%), composée essentiellement de glucides (plus de 90% du résidu sec) et presque toujours de saccharose mélangé parfois à de très faibles proportions de raffinose, de stachyose et de mannose. Les hexoses (fructose et glucose) n'apparaissent que dans les tissus voisins ou dans les organes situés en fin de parcours. Les substances azotées telles que les aminoacides et les amides, constituent de 0.03 à 0.5% du résidu sec selon les espèces, mais ce taux varie beaucoup avec les phases d'activité des plantes : il s'élève considérablement à l'automne lors de la chute des feuilles, ainsi qu'au printemps lors du débourrement des bourgeons. La sève élaborée contient enfin des vitamines, des hormones et des enzymes, dont une grande quantité est synthétisée par les feuilles ainsi que des substances minérales, du potassium.

2.3 Fluidique de l'arbre

Connaissant l'architecture vasculaire des plantes ainsi que les fluides qui y circulent, nous pouvons étudier comment ceux-ci circulent à travers la plante. Les théories de transport d'eau et de nutriments dans les plantes sont apparues à la fin des années 1800 dans le xylème avec l'établissement de la théorie de cohésion-tension [Böhm 1893, Dixon 1914]. En 1880, le botaniste allemand Edward Strasburger a démontré que la montée de la sève est un processus essentiellement physique qui ne doit rien aux propriétés des cellules vivantes. Pour prouver cette affirmation, il coupa un chêne centenaire et l'immergea dans une solution de picrate qui tue les cellules. Pourtant, pendant des semaines, les feuilles restèrent vertes et le niveau de la solution diminuait. Si elle orientait les recherches dans la bonne direction, cette expérience spectaculaire n'explique pas comment la sève parvint à circuler dans les arbres en parcourant parfois plus de 100 mètres (séquoia californien). Il faut attendre le milieu du 20^{ème} siècle pour comprendre le transport dans le phloème avec les hypothèses de Münch.

Dans cette partie, nous proposons une description du fonctionnement de l'arbre.

2.3.1 Potentiel hydrique

L'eau dans les plantes existe sous différentes phases (vapeur, liquide pur et solutions concentrées). Les biologistes définissent le potentiel hydrique, Ψ_w (Pa), à partir du potentiel chimique de l'eau :

$$\Psi_w = \frac{\mu_w - \mu_0}{v_1}, \quad (2.1)$$

où : μ_w le potentiel chimique de l'eau ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$), μ_0 le potentiel chimique de l'eau liquide à l'état pur à la pression atmosphérique (P_0), et $v_1 = 18.3 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ le volume molaire de l'eau liquide. Physiquement, Ψ_w représente une différence de pression relative à la pression atmosphérique de l'eau liquide pure. Ce potentiel permet d'évaluer l'impact d'un état thermodynamique donné sur le processus de transport de sève à travers la plante.

Dans la plante et dans son environnement proche, nous pouvons identifier les contributions importantes au potentiel hydrique de l'eau à l'état liquide et vapeur [Nobel 1999] :

$$\text{liquide : } \Psi_{w,l} \simeq (P - P_0) - RTC_S + \rho gz, \quad (2.2a)$$

$$\text{vapeur : } \Psi_{w,v} \simeq \frac{RT}{v_1} \ln \left(\frac{P_v}{P_{\text{sat}}} \right), \quad (2.2b)$$

où : P est la pression du liquide à la température T , C_S la concentration en solutés ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$), R la constante des gaz parfaits ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$), $\rho = 10^3 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ la masse volumique de l'eau liquide, g l'accélération de la pesanteur, z la hauteur de la colonne d'eau par rapport au niveau du sol. Dans l'équation 2.2b, P_v est la pression partielle de vapeur d'eau et P_{sat} est la pression de vapeur saturante de l'eau à cette même température. Dans l'expression 2.2a, les interactions moléculaires et de solvatation ont été négligées. Le second terme de l'équation 2.2a correspond à la pression osmotique établie dans l'approximation des faibles concentrations, $C_S \ll v_1^{-1}$. Dans l'équation 2.2b, le premier terme apporte une contribution négative au potentiel hydrique à l'état vapeur ($P_v/P_{\text{sat}} \leq 1$).

De façon globale, il est possible de comprendre les transferts de masse ascendant, descendant et évaporation en comparant les potentiels hydriques à l'état vapeur et à l'état liquide dans le xylème et le phloème, dans le sol et dans l'atmosphère.

2.3.2 Transport couplé entre le xylème et le phloème

La distribution d'eau et de nutriments du sol jusqu'aux feuilles et des produits de la photosynthèse (sucres) nécessite une convection bidirectionnelle entre les racines et les feuilles. La figure 2.7a est une représentation schématique de ce transfert de masse durant la transpiration et la photosynthèse à travers le xylème, le phloème et les différentes membranes d'interconnexions cellulaires. Ce schéma sera utilisé pour illustrer la théorie de cohésion-tension présentée ci-dessous en considérant que les pressions et les débits en régime permanent sont des fonctions des potentiels hydriques du sol (Ψ_{soil}) et de l'atmosphère (Ψ_0) et du débit des solutés entrant dans le phloème Q_{sol} .

2.3.2.1 Le potentiel hydrique avant l'aube

Pour obtenir une appréciation des interactions entre les différents composants de la plante et de son environnement, nous considérons, dans un premier temps, une situation statique où il n'y a pas de photosynthèse et d'évaporation. De plus, nous faisons l'hypothèse que $Q_{\text{sol}} = 0$. Cette situation correspond à la "nuit". Notons que les feuilles peuvent continuer d'envoyer des sucres dans la sève grâce aux réserves emmagasinées le jour. Puisqu'en l'absence de photosynthèse, les stomates restent fermés (Fig. 2.8c), la résistance au transfert d'eau des feuilles vers l'atmosphère est infinie. Le débit d'eau du sol vers l'atmosphère atteint ici son minimum. Les compartiments remplis d'eau s'approchent de l'équilibre avec le sol : les potentiels hydriques dans le xylème et dans le phloème sont égaux à celui dans le sol.

La pression dans le xylème peut être calculée à partir de l'expression 2.2a :

$$P = P_0 - \rho g z + \Psi_{\text{soil}} + RTC_S. \quad (2.3)$$

Pour la portion de xylème sous terre, la gravité diminue la pression de l'eau. Celle-ci devient négative pour des hauteurs de colonne d'eau supérieures à 10 m. Nous pouvons préciser que pour des pressions inférieures à la pression de vapeur saturante, le liquide est surchauffé et métastable.

Dans la plupart des cas, Ψ_{soil} est négatif et peut être la principale cause de réduction de pression dans le xylème. Scholander et al. (1965) ont illustré ce phénomène (Fig. 2.9) [Scholander 1965]. La pression nocturne des rhizophoras, avec leurs racines plongées dans de l'eau de mer, est d'environ -0.3 MPa ; cette valeur correspond à la pression osmotique de l'eau de mer. Les arbustes des zones arides ont des tensions significativement plus élevées dans leur xylème que la plupart des espèces de plus grandes tailles (tels que les séquoias dans les zones humides).

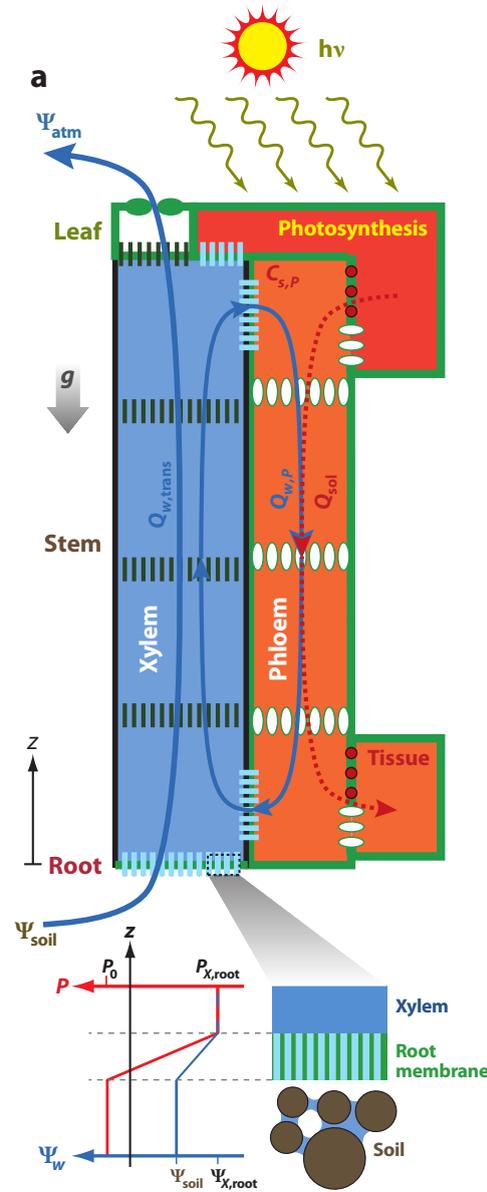


FIGURE 2.7 – Transport dans le xylème et le phloème d’après la théorie de la cohésion-tension et les hypothèses de Münch. (a) Vue globale et simplifiée des flux d’eau dus à la transpiration, Q_T et au transport dans le phloème, Q_P . Ces flux résultent d’une différence dans le potentiel hydrique entre le sol (Ψ_{soil}) et l’atmosphère (Ψ_0) et du débit de solutés chargés dans le phloème (Q_{sol}). (Image incrustée) Vue du sol, des membranes racinaires, et de l’eau contenue dans le xylème au niveau d’une racine. Graphique schématisant les variations de pression et de potentiel hydrique à travers la membrane racinaire [Stroock 2014].

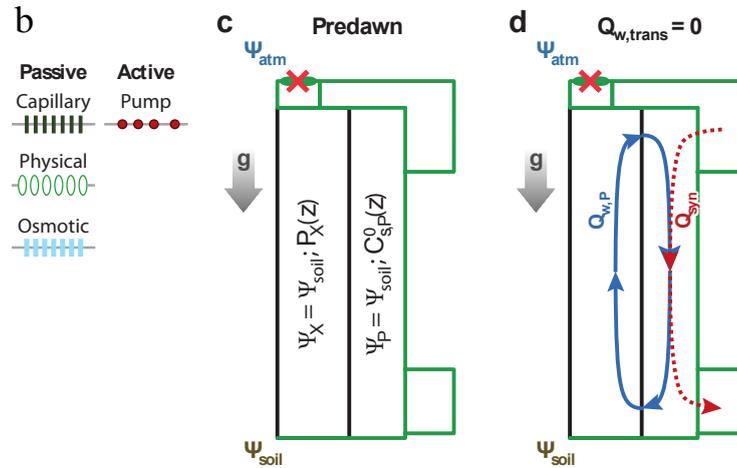


FIGURE 2.8 – Transport dans le xylème et le phloème d’après la théorie de la cohésion-tension et les hypothèses de Münch. (b) Signification des membranes représentées sur la figure 2.7. (c) Scénario avant l’aube dans lequel le potentiel hydrique à travers la plante se rapproche de celui du sol. (d) Chargement nocturne de soluté dans le phloème par un mécanisme de pompage [Stroock 2014].

Les biologistes utilisent l’équation 2.3 pour mesurer le potentiel hydrique du sol en mesurant la pression du xylème selon un protocole schématisé (Fig. 2.9).

Dans le phloème, les plantes gèrent activement l’état thermodynamique de l’eau en conservant sa pression au-dessus de la pression atmosphérique. En effet, pour maintenir un potentiel hydrique supérieur à celui du sol, les cellules métaboliquement actives adjacentes au phloème sécrètent des solutés, principalement sous forme de sucres. Cette surpression du phloème appelée pression de turgescence par les biologistes est nécessaire pour éviter l’effondrement de ces vaisseaux.

Des membranes osmotiques empêchant le passage des solutés relient le phloème au xylème et aussi au sol (Fig. 2.6 et 2.7a, 2.8b). A l’équilibre avec le sol (égalité des potentiels hydriques), la concentration en solutés dans le phloème est obtenue à partir de l’équation 2.2a :

$$C_s = \frac{1}{RT} (P - P_0 + \rho_1 g z - \Psi_{\text{soil}}). \quad (2.4)$$

Les mécanismes de turgescence sont un exemple de stratégie développée par les plantes pour contrôler la tension dans les cellules et conduits.

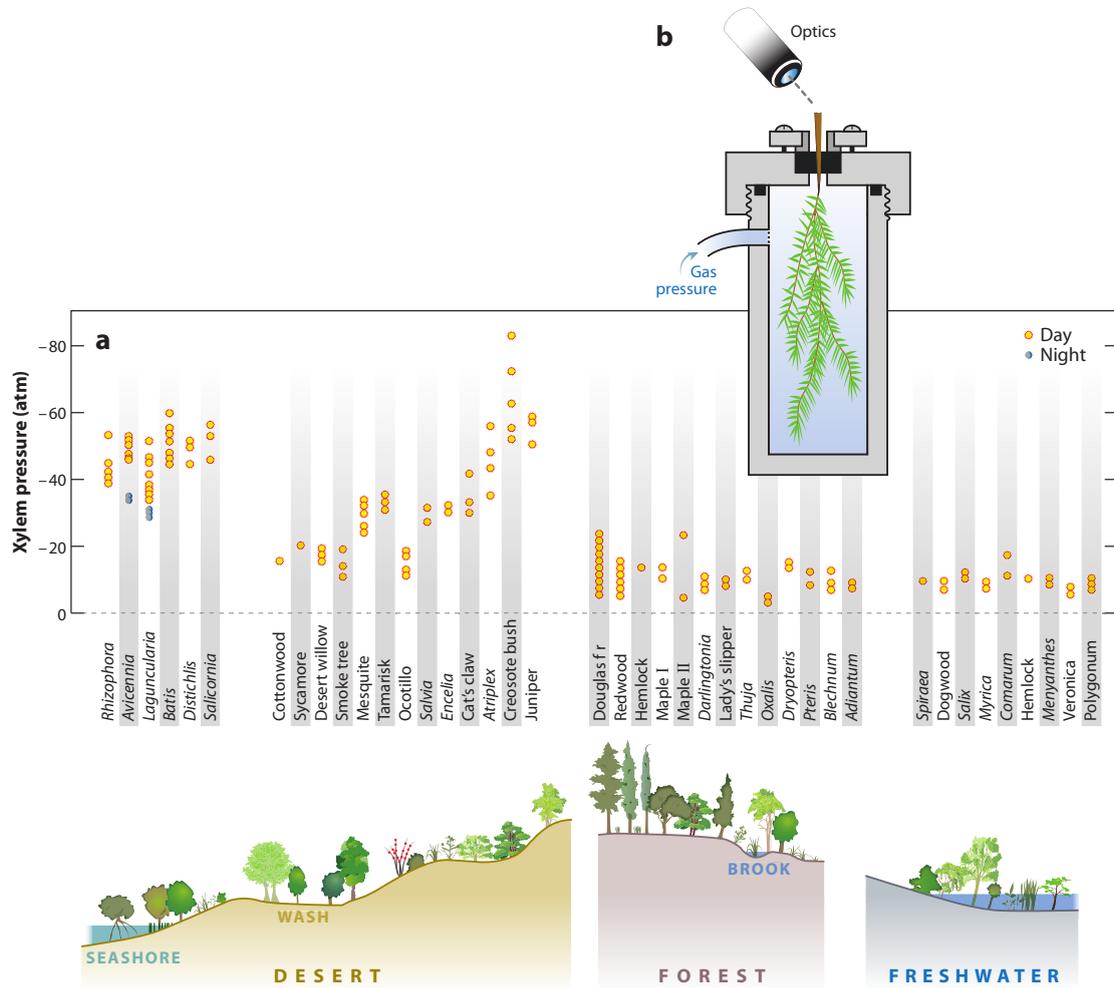


FIGURE 2.9 – Pression dans le xylème la nuit. (a) La pression relative à la pression atmosphérique dans les feuilles et les aiguilles ($P_{X,1} - P_0$) est reportée en atmosphère (≈ 0.1 MPa) pour différentes espèces et différents climats. Ces valeurs sont négatives. (b) Schéma de la chambre pressurisée de Scholander. Une feuille coupée est placée dans la chambre. La feuille est scellée par un joint au niveau de sa branche. La pression d'air est augmentée dans la chambre jusqu'à ce qu'une goutte de liquide soit observée optiquement à la surface coupée de la branche. Cette pression d'équilibre positive est considérée comme une estimation de la pression négative dans le xylème avant la coupe. Cette méthode est en accord avec d'autres types de mesures plus directes et mécaniques (Figure adaptée de [Scholander 1965]).

2.3.2.2 Transport pendant la photosynthèse : la transpiration

Dans la situation la plus commune où l'atmosphère est plus sèche que le sol, le potentiel hydrique de l'atmosphère est inférieur à celui du sol (eau à l'état vapeur). Ainsi, le gradient de potentiel hydrique génère un courant ascendant d'eau du sol vers l'atmosphère.

Dans le xylème, des racines aux feuilles, l'eau de la sève est à l'état liquide. Au niveau des membranes des racines, l'égalité des potentiels chimiques entre les phases vapeur et liquide génère une pression négative dans le xylème. Cette pression diminue avec l'altitude.

Entre l'atmosphère et les stomates des feuilles, la différence entre les potentiels chimiques de l'eau à l'état vapeur et liquide assure le mécanisme d'évaporation (transpiration). Le potentiel chimique de l'eau dans les stomates à l'état vapeur peut être déterminé par celui de l'eau à l'état liquide (équilibre des phases). Ce processus thermodynamique offre à la plante une voie de transport aux conductances élevées de l'eau du sol aux feuilles. Nous notons que le processus de transpiration pour les sols sous-saturés ($\Psi_{\text{soil}} < 0$) est une variante de la purification par osmose inverse (Fig. 2.7a). En conséquence, la réduction du potentiel hydrique dans l'atmosphère est transmise par tension aux racines à travers la colonne de liquide dans le xylème. Cette tension "tire" l'eau à travers les membranes racinaires jusqu'aux stomates. En conclusion, la transpiration peut être vue tel qu'un mécanisme de distillation membranaire.

2.3.2.3 Transport pendant la photosynthèse : transport dans le phloème

La photosynthèse des sucres dans les feuilles fournit un mécanisme au sein duquel est généré un flux de sève qui est gouverné par le potentiel hydrique dans le phloème. Ce courant circule dans le sens opposé à celui du xylème et à contre-sens du gradient de potentiel hydrique entre le xylème et le phloème. Nous utilisons le scénario simplifié en régime permanent présenté sur la figure 2.7a pour illustrer ce mécanisme proposé par Münch (1930) [Münch 1930] : la présence des sucres dans le phloème entraîne une diminution du potentiel hydrique par rapport à celui du xylème. Sous cette différence de potentiels, l'eau passe à travers une membrane osmotique augmentant la pression dans le phloème et générant un flux descendant. De plus, cette convection dans le phloème assure le transport des sucres dans les tissus des branches et des racines. En régime permanent, le débit de production de sucres, Q_{sol} , doit compenser le débit de convection dans la plante et maintenir une valeur critique au bon fonctionnement de la plante. Au cours de l'écoulement de la sève dans le phloème des feuilles aux racines, la concentration en sucres diminue progressivement. Cet effet provoque une augmentation du potentiel hydrique

de l'eau au niveau des racines qui est responsable d'un flux du phloème vers le xylème. En conclusion la synthèse et le transport des sucres dans les tissus sont responsables d'une deuxième force motrice qui assure une circulation de fluides dans les plantes. Ainsi le transfert d'eau du xylème au phloème au niveau des feuilles et du phloème au xylème au niveau des racines est responsable de la circulation de la sève au sein des plantes.

2.3.2.4 Equation de flux du xylème et du phloème

Après avoir décrit qualitativement la circulation de la sève dans le xylème et le phloème sous l'effet des potentiels hydriques, il est possible de calculer l'expression des flux d'eau dans le xylème et le phloème.

Selon le scénario proposé sur la figure 2.7a, la force motrice, $\Delta\Psi = \Psi_{\text{soil}} - \Psi_{\text{atm}}$, peut s'exprimer en fonction de la différence de pression dans le xylème des racines et des feuilles, ΔP_X , et du débit de transpiration Q_T :

$$\Delta\Psi = \Psi_{\text{soil}} - \Psi_{\text{atm}} = \Delta P_X + Q_T(R_r + R_l). \quad (2.5)$$

où R_r et R_l sont les résistances hydrauliques dans le transfert de l'eau au niveau des racines et des feuilles.

La différence de pression ΔP_X peut aussi s'écrire en fonction du débit sortant par transpiration Q_T et du débit entrant provenant du phloème, Q_P

$$\Delta P_X = R_X(Q_T + Q_P), \quad (2.6)$$

où R_X est la résistance hydraulique de xylème.

La différence de pression dans le phloème des racines et des feuilles, ΔP_P , s'écrit simplement en fonction du débit sortant, Q_P :

$$\Delta P_P = -R_P Q_P, \quad (2.7)$$

où R_P est la résistance hydraulique de phloème.

Enfin l'égalité des potentiels hydriques entre le phloème et le xylème conduit à l'expression suivante :

$$RT\Delta C_{s,P} = R_{X-P}Q_P - \Delta P_P + R_{X-P}Q_P + \Delta P_X = (2R_{X-P} + R_P)Q_P + \Delta P_X. \quad (2.8)$$

En combinant l'ensemble de ces équations (2.5, 2.6, 2.7 et 2.8), le débit de transpiration prend l'expression suivante :

$$Q_T = \frac{\Delta\Psi - R_X Q_P}{R_X + R_r + R_l}, \quad (2.9)$$

De plus, le débit sortant du phloème peut s'écrire sous la forme :

$$Q_{w,P} = \left(\frac{RT/v_l}{R_{P,tot} + R_X} Q_{sol} \right)^{1/2}. \quad (2.10)$$

Les expressions 2.9 et 2.10 montrent le couplage entre les différents débits. Les résistances hydrauliques R_P et R_X sont des grandeurs proportionnelles à z . En conséquence $Q_P \sim z^{-1/2}$.

Ces développements analytiques ont permis de formaliser les hypothèses développées dans le cadre de la cohésion-tension [Dixon 1894, Palladin 1926]. Rappelons que cette théorie prédit que l'écoulement de la sève est gouverné par la dépression au sein du xylème. Ainsi la sève semble aspirée des racines vers les feuilles, mécanisme contrôlé par la transpiration à l'échelle des stomates.

2.4 Les arbres synthétiques

Les équations que nous avons établies pour décrire les écoulements de sève sont complexes. Afin de modéliser ce comportement, des hypothèses simplificatrices peuvent être faites. Le développement de nouvelles méthodes ont permis de valider la théorie de cohésion-tension. Ces techniques sont basées sur l'utilisation d'arbre synthétique qui est un modèle simplifié représentant le fonctionnement des arbres.

Les systèmes synthétiques conçus pour reproduire les processus de transport dans les plantes ont joué un rôle important pour la validation de la théorie de cohésion-tension. Des expériences extrêmement simplistes mimant le comportement du xylème ont été développées à la fin du 19^{me} siècle [Dixon 1894, Palladin 1926]. Ces modèles ont montré que la tension générée dans les feuilles est transmise par la colonne de liquide aux racines. Cet effet conduit à une condensation de la vapeur contenue dans le sol, ce qui est en accord avec la théorie de cohésion-tension.

L'utilisation d'hydrogel est une grande avancée dans ce domaine [Thut 1928]. Des modèles macroscopiques plus sophistiqués représentant le transport du phloème ont ensuite été testés. Eschrich et al. (1972) ont créé un système composé d'un flux bidirectionnel. Les deux chemins du flux sont reliés par une membrane osmotique à leurs extrémités [Eschrich 1972, Lang 1973].

Le développement très récent de méthode de création de structures microfluidiques a fourni l'opportunité de revisiter le défi de fabriquer une copie synthétique des plantes vasculaires [Stone 2004]. Des pompes capillaires ont

été utilisées pour faire circuler les fluides dans ces systèmes microfluidiques [Effenhauser 2002, Goedecke 2002, Juncker 2002, Guan 2006]. Eijkel et van der Berg (2005) ont montré que les flux dus à l'évaporation au niveau de l'extrémité des tubes pouvaient être vus comme une forme de transpiration et être modélisés en terme de potentiel hydrique [Eijkel 2005]. En travaillant avec des nano-canaux, Tas et al. (2003) ont déduit l'existence d'une tension à l'intérieur d'une goutte d'eau et ont ensuite mesuré des tensions inférieures à -1.5 MPa [Tas 2003]. Duan et al. (2012) ont observé toujours dans des nano-canaux la cavitation de l'eau liquide durant un séchage [Duan 2013]. Noblin et al. (2008) se sont rapprochés de la physiologie de la feuille en formant des micro-canaux dans des polymères de silicone et en permettant l'évaporation à travers une membrane [Noblin 2008].

Wheeler et Stroock (2008) ont fabriqué un modèle de xylème dans l'esprit de Dixon et Joly (1894) avec des zones représentant les feuilles et les racines [Wheeler 2008]. Les racines et feuilles sont formées d'un hydrogel synthétique. Le xylème est représenté par un capillaire rempli de liquide reliant les deux hydrogels. La figure 2.10 fournit une représentation minimale des composants nécessaires au mécanisme de transpiration. Cette représentation permet de comprendre de manière simplifiée la thermodynamique de l'arbre. Le système de la figure 2.10 agit tel un conduit passif pour l'eau qui circule d'un potentiel chimique élevé celui du sol, μ_{soil} , à un potentiel chimique plus faible celui de l'air, μ_{air} .

Au niveau des racines, l'eau est puisée dans le sol, dont sa pression est $P_{\text{soil}} = P_0$, son activité est $a_{\text{V}}^{\text{soil}} \leq 1$ et sa température est T , à travers une membrane et va dans le xylème. Dans cette représentation, l'eau dans le sol est sous phase vapeur (V). A l'intérieur du xylème, l'eau liquide (L) se déplace grâce à la pression des racines (pression : P_r ; activité : $a_{\text{L}}^r = 1$; température : T) aux feuilles (pression : $P_1 = P_r - \Delta P_X$; activité : $a_{\text{L}}^1 = 1$; température : T). Dans la feuille, l'eau contenue dans le xylème diffuse à travers une membrane dans l'air (pression : $P_{\text{air}} = P_0 > P_1$; activité : $a_{\text{V}}^{\text{air}} \leq 1$; température : T).

L'activité de l'eau en phase gazeuse, a_{V} , est définie par : $a_{\text{V}} = P_{\text{w}}/P_{\text{sat}}$ où P_{w} et P_{sat} sont respectivement la pression de vapeur et la pression de vapeur saturante. L'activité de l'eau en phase liquide, a_{L} , est définie telle la fraction molaire de l'eau en solution.

En général, l'eau contenue dans l'air existe dans un état sous-saturé. Dans la nature, l'eau dans le sol existe dans l'état gazeux ou à l'état de liquide pur. Dans cette étude, nous considérons que l'eau dans le sol est dans un état sous-saturé. Dans la situation de la figure 2.10, nous avons cette relation pour les activités : $a_{\text{V}}^{\text{air}} \leq a_{\text{V}}^{\text{soil}} \leq 1$. L'eau liquide dans le xylème est quant à

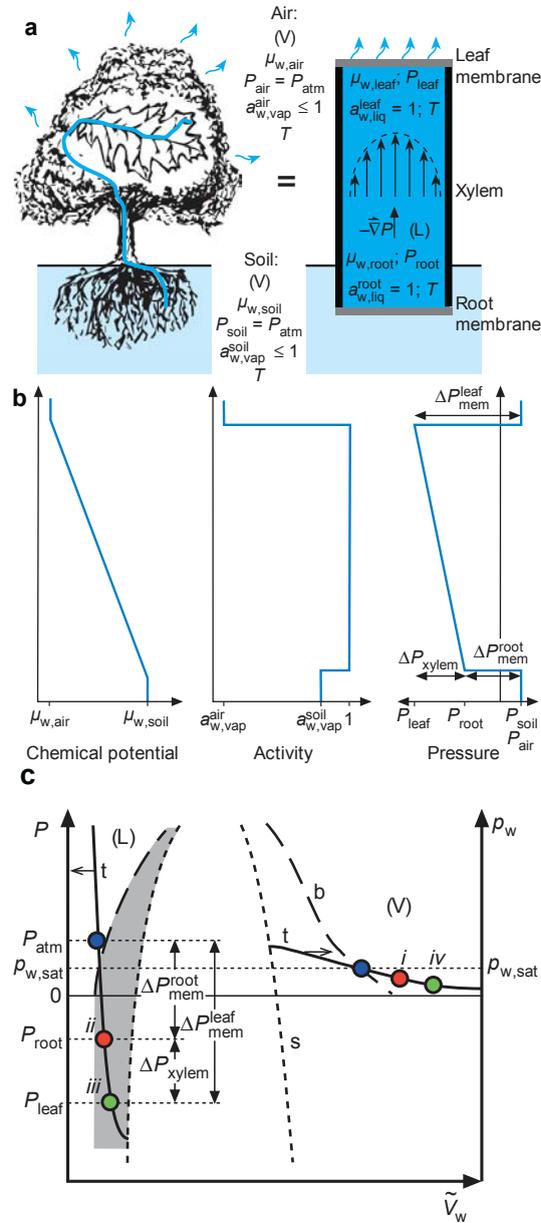


FIGURE 2.10 – Transpiration de l’eau à des pressions négatives : (a) Représentations schématiques d’un arbre à travers lequel circule de l’eau des racines jusqu’aux feuilles (image de gauche) et à droite, un modèle minimal des composants nécessaires à la transpiration des arbres. (b) Profils schématiques du potentiel chimique, de l’activité et de la pression de l’eau le long de l’arbre. (c) Représentation schématique d’une isotherme (t), de la binodale (b) et la spinodale (s) projetées sur le diagramme de phase de l’eau en fonction de la pression (la pression totale, P , pour le liquide sur l’axe des ordonnées de gauche et la pression de vapeur, P_w , pour la vapeur (V) sur l’axe des ordonnées de droite) et du volume molaire, \tilde{V}_w . La paire de points bleus indique un état stable du liquide à la pression atmosphérique en équilibre avec une vapeur saturée à P_{sat} . La paire de points rouges et verts indique l’état liquide (ii et iii) dans un équilibre métastable avec des vapeurs sous-saturées (i et iv). Durant la transpiration du sol sous-saturé dans l’atmosphère sous-saturée, l’eau suit le chemin thermodynamique : $i \rightarrow ii \rightarrow iii \rightarrow iv$ [Wheeler 2008].

elle quasiment pure. Les activités de l'eau dans les racines et dans les feuilles sont donc proches de 1 : $a_L^r = a_L^l \approx 1$. Un équilibre local est créé au niveau des racines et des feuilles permettant de rééquilibrer les activités au niveau des membranes. Cet équilibre local se traduit par une égalité des potentiels chimiques entre les phases internes et externes : $\mu_{\text{soil}} = \mu_r$ et $\mu_l = \mu_{\text{air}}$. À partir de ces égalités, il est possible de résoudre la différence de pression au niveau des membranes en suivant la méthode suivante.

La dérivée de l'enthalpie libre s'écrit :

$$dG = VdP - SdT + \mu dn. \quad (2.11)$$

Nous considérons que la température est constante. Avec cette hypothèse, l'équation 2.11 devient :

$$d\mu = \frac{\partial V}{\partial n} dP. \quad (2.12)$$

Or $V = nV_m(T, P)$ où V_m , le volume molaire. On obtient donc :

$$d\mu = V_m(T, P)dP. \quad (2.13)$$

Nous pouvons écrire l'équilibre entre le potentiel chimique de l'eau liquide, μ_L , d'un côté de la membrane et le potentiel chimique de la vapeur saturée, μ_V de l'autre côté :

$$\mu_L = \mu_V. \quad (2.14)$$

En se plaçant sur l'isotherme, l'équation 2.14 peut s'écrire comme :

$$\mu_0(T) + \int_{P_0}^{P_1} V_{m,L}(P)dP = \mu_0(T) + \int_{P_{\text{sat}}}^{P_V} V_{m,V}(P_V)dP_g. \quad (2.15)$$

où : $\mu_0(T)$ est le potentiel chimique de référence de l'eau à la température T , $V_{m,L}$ est le volume molaire de l'eau liquide qui est considéré comme étant constant, P_0 est la pression de la phase liquide à l'équilibre, P_{sat} est la pression partielle de vapeur saturante de l'eau dans l'air et P_V est la pression partielle de l'eau vapeur.

Pour la phase gaz, nous pouvons écrire la loi des gaz parfaits, soit : $V_{m,V}(P_V) = RT/P_V$.

L'égalité des potentiels 2.15 devient alors :

$$V_{m,L} \int_{P_0}^{P_1} dP = RT \int_{P_{\text{sat}}}^{P_V} \frac{dP_V}{P_V}. \quad (2.16)$$

En intégrant l'équation précédente 2.16, nous obtenons pour la cas général :

$$V_{m,L} (P_1 - P_0) = RT \ln \left(\frac{P_V}{P_{\text{sat}}} \right). \quad (2.17)$$

Dans le cas d'une interface entre l'air et les feuilles, les valeurs des pressions sont les suivantes : $P_1 = P_l$; $P_0 = P_{\text{air}}$; $P_V = P_w$, ce qui nous donne :

$$\Rightarrow P_{\text{air}} - P_l = -\frac{RT}{V_{m,L}} \ln(a_V^{\text{air}}). \quad (2.18)$$

Dans le cas d'une interface entre le sol et les racines, les valeurs des pressions sont les suivantes : $P_1 = P_r$; $P_0 = P_{\text{soil}}$; $P_V = P_w$; ce qui nous donne :

$$\Rightarrow P_{\text{soil}} - P_r = -\frac{RT}{V_{m,L}} \ln(a_V^{\text{soil}}). \quad (2.19)$$

La pression dans les feuilles a été mesurée ; elle est de l'ordre de -10 MPa. La pression dans les feuilles P_l est inférieure à la pression de vapeur saturante, P_{sat} . Dans cette configuration, l'eau liquide est mécaniquement stable ($\partial P/\partial V < 0$) et thermodynamiquement métastable.

Les arbres synthétiques peuvent transpirer en régime permanent avec des pressions négatives. De nombreux auteurs ont aussi utilisé des mécanismes osmotiques pour mettre en mouvement des liquides à travers des systèmes microfluidiques [Eijkel 2005, Velten 2006, Good 2007, Xu 2010].

Dans cette représentation minimale de la transpiration, la résistance au transfert de l'eau entre le sol et les racines et entre l'air et les feuilles est négligée. La représentation simplifiée ne prend pas non plus en compte la résistance imposée par les stomates, par les ponctuations, et par le gradient osmotique établi par le transport de solutés à travers les membranes des racines.

2.5 Conclusion

La compréhension de la physiologie vasculaire des plantes a énormément progressé lors du siècle dernier. Des nouvelles expériences ont permis de valider les hypothèses de la théorie de cohésion-tension. Elles ont fourni des informations concernant la dynamique des phénomènes de transport. Cependant un certain nombre d'incertitudes demeurent dans les propriétés physiques des plantes ainsi que sur les mécanismes biologiques. Les propriétés physiques et structurelles ainsi que la composition chimique des membranes du xylème et du phloème sont inconnues alors qu'elles ont un rôle majeur dans le transport de la sève.

Nous avons vu en étudiant la thermodynamique de la plante que la sève brute est dans un état métastable sujet à l'apparition de bulles d'air au sein

de la colonne de liquide. Ces bulles de gaz peuvent croître et envahir plusieurs segments de xylème. La propagation de poches de gaz dans le système vasculaire peut provoquer la mort de la plante. Dans la suite de cette thèse, nous allons uniquement nous intéresser à l'embolie de sève brute se propageant à travers le xylème, ainsi qu'à son passage à travers les ponctuations du xylème.

L'embolie des arbres

Sommaire

3.1	L'embolie dans les arbres	28
3.1.1	Limite de stabilité dans les plantes	28
3.1.2	Mesure du degré d'embolie : le cavitron	31
3.1.3	Rétablissement après embolisation - Cicatrisation . . .	34
3.2	La cavitation	36
3.2.1	La cavitation dans le xylème	37
3.2.2	Dynamique de la bulle	39
3.3	Objectifs de la thèse	42

Le transport de l'eau dans les arbres s'effectue sous tension (i.e. sous des pressions négatives) selon la théorie de la cohésion-tension. L'eau étant physiquement instable dans ces conditions, les colonnes de sève sont sujettes à un risque de cavitation. La cavitation va rompre la continuité de la colonne d'eau ce qui empêchera le transport d'eau à travers le système vasculaire.

De nombreuses questions peuvent être formulées sur les phénomènes de cavitation dans les vaisseaux du xylème. Quelle est la nature de la cavitation (homogène ou hétérogène) et par quels mécanismes apparaît-elle ? Comment à partir de bulles nucléées des poches gaz se forment et se propagent dans le xylème provoquant des phénomènes d'embolie gazeuse pouvant causer la mort de l'arbre ? Les arbres peuvent-ils se rétablir d'une embolie et quels sont les mécanismes de cicatrisation ?

Dans une première partie, nous présenterons le phénomène d'embolie gazeuse dans les vaisseaux du xylème. Puis nous nous intéresserons aux phénomènes de cavitation de la sève dans les arbres.

Cette réflexion nous amènera à énoncer les objectifs de la thèse.

3.1 L'embolie dans les arbres

La rupture des colonnes de liquide dans le xylème a lieu avec d'importantes conséquences sur le fonctionnement et la viabilité des plantes. Une fois qu'une bulle nucléée croît suffisamment pour remplir un vaisseau, la poche de gaz peut provoquer l'embolie de l'arbre. Nous allons voir comment peut se propager cette poche. Nous nous demanderons dans un second temps si l'embolie est réversible ou non.

3.1.1 Limite de stabilité dans les plantes

Plusieurs types de mesures ont mis en évidence les phénomènes de cavitation dans le xylème. Par des méthodes directes, l'absence de sève dans les segments individuels peut être observée optiquement dans des branches fines ou dans des échantillons de bois coupé par cryogénie et imagé par microscopie électronique [Marenco 2006]. Par des méthodes moins directes, les événements de cavitation peuvent être détectés acoustiquement dans le xylème en temps réel avec un capteur ultrasonore placé sur la surface extérieure d'une branche ou du tronc. La croissance rapide d'une bulle de gaz à l'intérieur d'un vaisseau peut émettre une détonation ultrasonore à des fréquences dans une gamme de 0.1 à 1 MHz lors de la libération de l'énergie élastique dans les tissus du bois

[Milburn 1966, Tyree 1983]. L'émission de sons par des événements autres que la cavitation, tel que le retrait et l'imbibition d'eau des tissus non-conducteurs ou la rupture mécanique d'éléments constituant le bois, complique l'interprétation du signal acoustique [Tyree 1983].

Une analyse fonctionnelle de la cavitation implique de couper une section de branche à partir d'une plante dont on connaît le potentiel hydrique et de mesurer sa conductance hydraulique (Fig. 3.1) immédiatement après la coupe et après une réhydratation totale [Tyree 1989]. La conductance relative ou pourcentage de perte de conductance (PLC), entre l'état embolisé et réhydraté, fournit une mesure du nombre de vaisseaux qui étaient vides de sève au moment de la coupe. La PLC augmente avec la diminution de potentiel hydrique dans le xylème, ce qui met en évidence des phénomènes de cavitation dans les vaisseaux.



FIGURE 3.1 – Perfusion d'un unique vaisseau de xylème sur une section de branche dans le but de mesurer la conductance du xylème en fonction de la composition de la sève [Zwieniecki 2001b].

La figure 3.2 présente une compilation pour 223 espèces du potentiel hydrique minimum dans les feuilles ou aiguilles, Ψ_{\min} , correspondant à la pression minimum du xylème en fonction du potentiel hydrique qui conduit à 50% de perte de conductivité, Ψ_{50} [Choat 2012]. La distance entre les points au-dessus de la droite unité et la droite unité représente la marge de sécurité avant qu'une perte importante de conductivité dans le xylème ne cause de la cavitation. Cette donnée indique que de nombreuses plantes, dont les angiospermes, vivent proches de leurs limites de stabilité. Choat et al. (2012) ont montré les implications possibles de ce mode de vie dangereux des plantes en réponse au changement de climat. Nous notons, cependant, que les plantes peuvent récupérer après une embolie partielle et que le seuil létal pour la perte de conductance dépend des espèces [Choat 2012]. La figure 3.2 confirme que la cavitation n'est pas de type homogène puisque le début de la cavitation se produit à des pressions comprises entre -1 à -8 MPa ce qui est bien plus faible que la limite de stabilité prédite pour la cavitation homogène [Herbert 2005].

Une poche de gaz croît jusqu'à remplir entièrement un vaisseau du xylème.

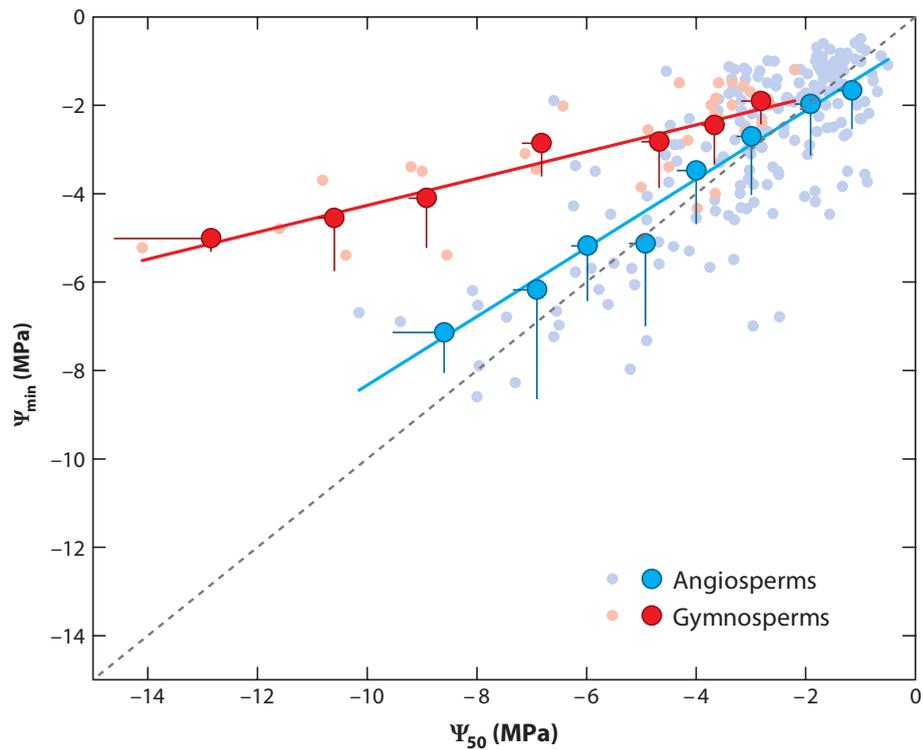


FIGURE 3.2 – Vulnérabilité à l'embolie de 191 espèces d'angiospermes et de 32 espèces de gymnospermes. Ψ_{\min} est le potentiel hydrique minimum du xylème durant la journée. Ψ_{50} est le potentiel hydrique correspondant à 50% de perte de conductance. [Choat 2012].

La poche se propage d'un vaisseau à l'autre. La propagation semble venir du passage d'air à travers les pores des ponctuations du xylème. Dans la littérature la présence de pores dans les ponctuations est controversée. Il existe des démonstrations expérimentales en sa faveur. Cochard et al. ont montré qu'augmenter la pression d'air $+P$ dans les conduits a le même effet que de diminuer la pression du xylème de $-P$ [Cochard 1992]. Cette information suggère que la cavitation est causée par une rupture capillaire du ménisque air/eau localisé dans les pores des ponctuations. Le plus gros pore de la paroi susceptible de provoquer l'apparition de gaz se situe probablement dans la paroi primaire de la ponctuation. Une controverse existe concernant le passage de l'air à travers ces pores. Il a été montré que la paroi primaire des ponctuations est composée d'un réseau non tissé de microbilles de cellulose cristallisées et de substances amorphes de composition chimique inconnue [Lee 2012, Pesacreta 2005]. Lors de la mise sous tension de la paroi primaire, la membrane peut se déformer et les substances amorphes contenues dans la membrane peuvent boucher les pores, empêchant alors le passage du gaz. Dans la suite de cette étude, nous allons considérer les parois primaires telles des membranes poreuses qui fonctionnent telles des valves capillaires. Partant de cette hypothèse, nous étudierons la cohérence de l'ensemble des résultats controversés dans la littérature.

3.1.2 Mesure du degré d'embolie : le cavitron

La perméabilité K d'un rameau et la pression critique correspondant au degré d'embolie peuvent être déterminées à l'aide d'un appareil nommé cavitron et développé à l'INRA de Clermond-Ferrand [Cochard 2002].

Un rameau de longueur $2L$ et de section a est placé dans une centrifugeuse en rotation autour d'un axe vertical (Fig. 3.3). Chaque extrémité du rameau est immergée dans un réservoir d'eau dont la surface libre, à la pression atmosphérique P_0 , est verticale pour une vitesse de rotation suffisante (typiquement 1000 à 4000 tours par minute). La différence $r_1 - r_2$ des distances des surfaces libres à l'axe de rotation engendre une différence de pression entre les deux extrémités du rameau, provoquant un écoulement. La position r_2 de la surface libre du réservoir 2 est maintenue constante par un petit trou de drainage. Un microscope fixe permet de repérer la position r_1 de la surface libre du réservoir 1, à chacun de ses passages sous l'objectif, et d'en déduire le débit dans le rameau.

L'écoulement de l'eau dans les réservoirs étant lent, la pression y est donnée

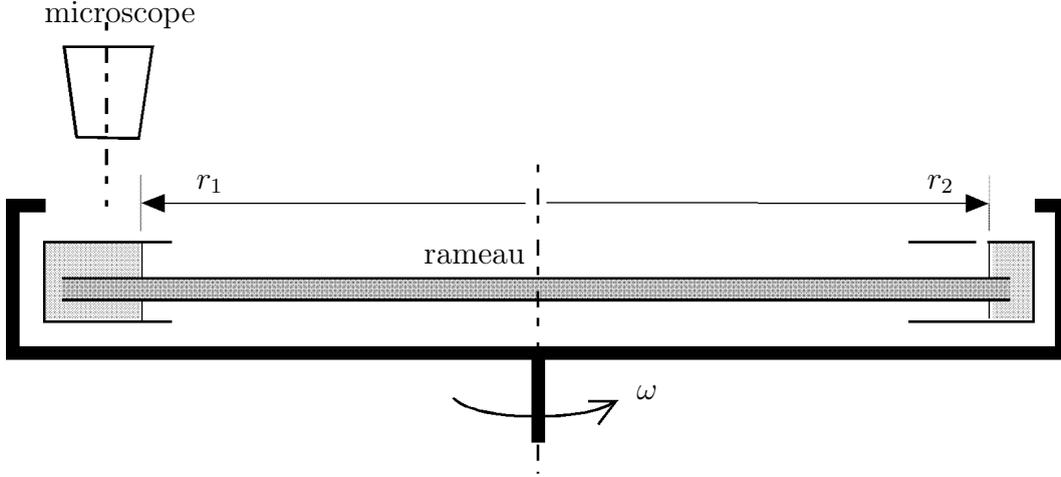


FIGURE 3.3 – Schéma du dispositif de mesure de perméabilité d'un rameau placé dans une centrifugeuse.

par

$$0 = -\frac{\partial P}{\partial r} + \rho\omega^2 r, \quad (3.1)$$

où ω est la vitesse de rotation et ρ la masse volumique du fluide. La pression $P_1(r)$ dans le réservoir 1 est alors donnée par

$$P_1 - P_0 = \frac{\rho\omega^2}{2}(r^2 - r_1^2). \quad (3.2)$$

De la même façon, nous obtenons une expression semblable pour le réservoir 2. On en déduit la différence de pression ΔP entre les deux extrémités du rameau, situées à la même distance L de l'axe. Cette différence de pression engendre un écoulement dans le rameau, de vitesse U donnée par la loi de Darcy :

$$U = \frac{K}{\mu} \Delta P, \quad (3.3)$$

où K est la perméabilité. Par conservation de la masse, la position r_1 de la surface libre du réservoir 1 est liée à la vitesse U par la relation :

$$\frac{dr_1}{dt} = \frac{a^2}{A^2 - a^2} U \quad (3.4)$$

où A est la section du réservoir. Des trois équations ci-dessus, on déduit que la position r_1 est régie par l'équation différentielle

$$\frac{dr_1}{dt} = -CK(r_2^2 - r_1^2) \quad (3.5)$$

où $C = (a^2\rho\omega)/(2(A^2 - a^2))$. L'ajustement de la solution de cette équation aux mesures $r(t)$, pour une condition initiale $r_1(0) = r_{10} > r_2$, permet de déterminer la perméabilité K du rameau.

Le cavitron permet donc de déterminer la perte de conductance, lorsque l'on réitère cette expérience à différentes vitesses de rotation. A partir de ces données, nous pouvons obtenir une courbe de vulnérabilité correspondant à l'évolution de la PLC en fonction de la pression dans les vaisseaux du xylème. Un exemple de courbe de vulnérabilité réalisée sur plusieurs espèces d'angiospermes est montré sur la figure 3.4.

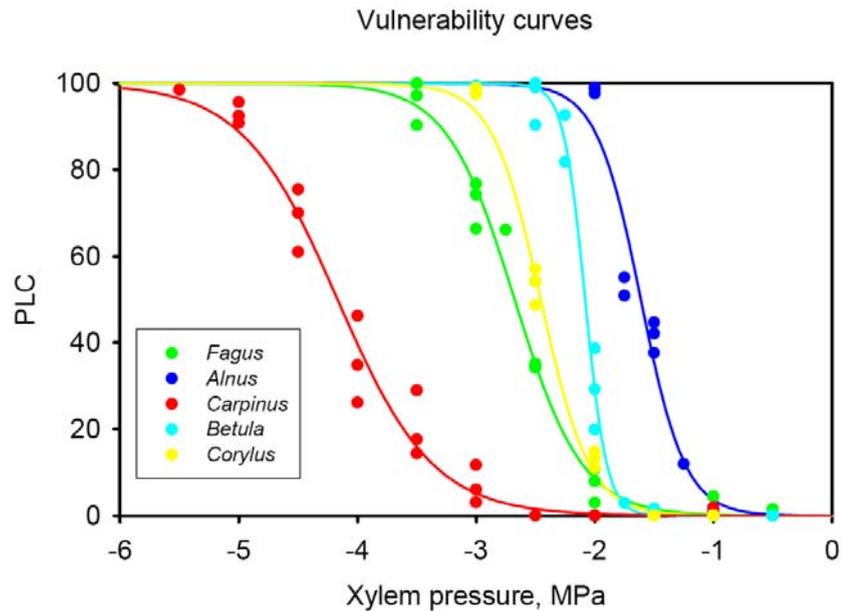


FIGURE 3.4 – Courbes de vulnérabilité de différentes espèces d'angiospermes où PLC représente le perte de conductance [Badel 2012].

Sur la courbe de vulnérabilité (Fig. 3.4), nous pouvons voir que la perte de conductivité débute pour une pression comprise entre -0.5 MPa et -2 MPa. Cette pression correspond à l'apparition de bulles dans le xylème. Pour une pression supérieure comprise entre -2 MPa et -6 MPa suivant les espèces, nous arrivons à une perte de conductivité totale ce qui signifie que la branche

est entièrement remplie d'air.

Cette technique nous permet de visualiser l'effet de la propagation d'une embolie sur la perte de conductivité dans les vaisseaux du xylème. Ces expériences prouvent que les arbres peuvent mourir lorsque les embolies se propagent dans l'ensemble du réseau vasculaire.

3.1.3 Rétablissement après embolisation - Cicatrisation

Les plantes peuvent se rétablir de la perte de conductivité dans le xylème résultant de l'embolie. Par exemple, nous observons que la perte de conductance qui se développe pendant la journée peut être rétablie pendant la nuit. Nous constatons cela en observant des expériences de remplissage des vaisseaux embolisés avec de l'eau liquide [Zwieniecki 1998, Zufferey 2011]. Récemment, des observations par résonance magnétique nucléaire [Holbrook 2001] et par tomographie [Brodersen 2010] ont permis de visualiser le remplissage in vivo des vaisseaux. La figure 3.5a montre des images de vigne intacte en tomographie [Brodersen 2010]. Initialement, les vaisseaux du xylème sont remplis d'air ; après 3.8 h, ces zones sont remplies de sève (eau). La figure 3.5b présente une reconstruction en trois dimensions du remplissage. Nous pouvons en déduire à partir de la ségrégation apparente du liquide dans les gouttes (Fig. 3.5b) que les parois du xylème ne sont pas totalement mouillées ; des mesures optiques indiquent que les angles de contact sont d'environ 40 à 50° de l'eau dans le xylème ([Zwieniecki 2000]). Cette condition de mouillage partiel signifie que la propagation capillaire ne peut pas aider au remplissage. Dû à la métastabilité du liquide dans le xylème (eq. 2.2), le processus de remplissage pose un enjeu physique : pour expulser l'air ou la vapeur des vaisseaux embolisés, la plante doit soit augmenter la pression dans les vaisseaux adjacents au dessus de P_{atm} (en considérant que l'air dans les vaisseaux est en équilibre avec la pression de l'air ambiant) pour pousser le liquide dans le vaisseau ; soit développer un moyen pour inverser le gradient local de potentiel hydrique.

Les biologistes reconnaissent depuis longtemps la capacité de certaines plantes à accumuler des solutés dans le xylème au niveau des racines lorsque la transpiration est stoppée. Par exemple l'eau peut être extraite du sol et des pressions relatives positives peuvent être développées [Slayter 1967]. Une étude sur différentes espèces indique que la pression dans les racines peut atteindre 0.1 à 0.2 MPa au-dessus de la pression atmosphérique [Fisher 1997] ce qui peut expliquer le remplissage de vaisseaux embolisés pendant la nuit de petites espèces placées sur un sol bien hydraté [Tyree 1992, Lewis 1994]. Depuis les années 80, des rapports sur le rétablissement de la conductivité dans les

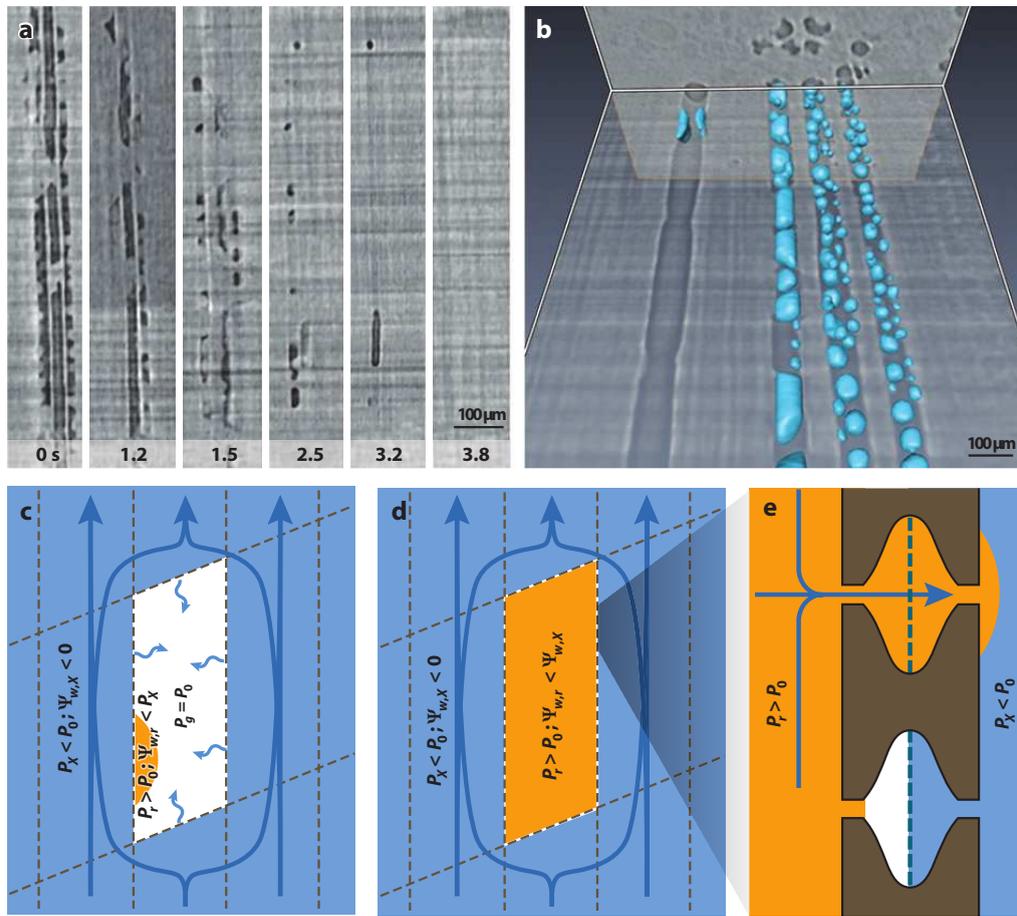


FIGURE 3.5 – Remplissage des vaisseaux embolisés. (a) Images tomographiques et (b) reconstitution numérique du xylème dans une branche de vigne. Dans le panneau (a), les six vues montrent l'évolution de la section de xylème pendant 3.8h. Les zones sombres correspondent aux sections de la veine remplie de gaz. Sur le panneau (b), un seul instant du remplissage est montré, les zones colorées en bleu clair correspondent à l'eau. (c-e) Représentation de l'hypothèse de remplissage local avec un potentiel hydrique négatif. Les solutés dans un vaisseau embolisé initie la croissance d'une goutte de la solution de remplissage avec un potentiel hydrique, $\Psi_{w,r}$, inférieur à celui du liquide dans les vaisseaux voisins dans lesquels le liquide est métastable ($\Psi_{w,x} = P_x - P_0 < 0$) (c). La pression dans le gaz atteint la pression atmosphérique ($P_g = P_{atm}$), et la pression dans la solution de remplissage doit être plus élevée que la pression atmosphérique ($P_r > P_{atm}$). Lorsque le remplissage est presque achevé (d), les ménisques des ouvertures étroites des ponctuations se remplissent de liquide (e). Une fois le liquide en contact avec celles-ci la connection hydraulique avec le liquide extérieur se fera. [Brodersen 2010].

vaisseaux en présence de transpiration active et de potentiels hydriques négatifs suggèrent qu'un mécanisme alternatif est nécessaire [Salleo 1989, Canny 1995, Canny 1997, Salleo 1996, Hacke 2003]. Les observations en tomographie de Brodersen et al. (2010) sont les seules reportant une visualisation directe du remplissage sous tension (Fig. 3.5a, b) [Brodersen 2010].

Le remplissage en présence de tension dans les vaisseaux adjacents nécessite l'utilisation d'un procédé pompant localement du liquide dans les vaisseaux vides [Canny 1997, Holbrook 1999] ou diminuant le potentiel hydrique dans les vaisseaux (Fig. 3.5c) de manière à ce que l'eau les remplisse spontanément [Salleo 1996, Canny 1997, Tyree 1999, Hacke 2003, Salleo 2004, Zwieniecki 2009, Secchi 2010, Secchi 2011, Nardini 2011]. Un autre mécanisme par lequel le liquide dans un vaisseau rempli de liquide se reconnecte avec les colonnes de liquide sous tension est nécessaire au remplissage des vaisseaux embolisés [Holbrook 1999, Tyree 1999, Salleo 2009, Zwieniecki 2009, Secchi 2010, Secchi 2011]. Une fois qu'un vaisseau embolisé a atteint un état presque rempli, la solution de remplissage sera encore à une pression positive en équilibre mécanique avec l'air restant (Fig. 3.5d). Lorsque la solution de remplissage atteint une ponctuation et se met en contact avec sa membrane (cf la ponctuation du dessus Fig. 3.5e), une connection hydraulique avec le liquide extérieur à une pression plus faible, se fait provoquant un flux de liquide qui remplira entièrement le vaisseau embolisé. Cette explication résume le fonctionnement du rétablissement de l'embolie.

3.2 La cavitation

La cavitation correspond à la formation de poches et de bulles de vapeur au sein d'un liquide initialement homogène. C'est donc le phénomène de vaporisation des liquides sous l'effet de dépressions [Lecoffre 1994]. La cavitation peut prendre des formes très différentes et peut être définie telle la rupture du milieu continu de liquide sous l'effet de contraintes excessives [Franc 1995]. Evoquer des contraintes excessives pour décrire le phénomène de cavitation, nous amène à faire appel à la notion de seuil à partir duquel la cohésion du milieu liquide ne peut plus être assurée.

Dans un premier temps, nous allons chercher à comprendre comment des nuclei de gaz peuvent naître dans le xylème et croître. Théoriquement, il existe deux mécanismes possibles pouvant expliquer le déclenchement de la cavitation dans les arbres : une perte de cohésion entre les molécules d'eau, c'est la cavitation homogène ; ou une perte d'adhésion entre l'eau et des solides telles

que les parois des vaisseaux ou des impuretés, c'est la cavitation hétérogène. Dans le but de comprendre les phénomènes de cavitation dans les vaisseaux du xylème, il est essentiel de déterminer le type de cavitation qui se produit dans ces cellules. Puis nous étudierons la dynamique de croissance de la bulle nucléée.

3.2.1 La cavitation dans le xylème

La cavitation homogène

Dans cette section, nous allons nous intéresser aux deux types de cavitation existants : homogène et hétérogène. Dans un premier temps, nous présentons une synthèse de la théorie cinétique de la nucléation homogène. La nucléation homogène de nuclei de vapeur apparait dans une phase liquide surchauffée formant un nucleus de vapeur. Une fois que les dimensions d'un nucleus aient atteint une valeur critique, celui-ci continue à croître et la cavitation a lieu. Pour déclencher la cavitation, une fluctuation thermique d'une énergie suffisante pour dépasser la barrière d'activation doit avoir lieu. Cette barrière d'activation E_b est associée au travail nécessaire pour augmenter la surface du nucleus par rapport à sa taille critique et est donnée par :

$$E_b(P_{\text{void}}) = \frac{16\pi\sigma^3}{3(P_{\text{sat}} - P_v)^2} \quad (3.6)$$

où P_{sat} la pression de vapeur saturante de l'eau et P_v la pression du liquide autour de la bulle de gaz.

La probabilité qu'un événement de cavitation ait lieu durant une expérience réalisée dans un volume V et durant un temps τ est donnée par :

$$\mathbb{P}(P) = 1 - \exp \left\{ - \ln \left[\xi \exp \left(\frac{P_v}{P_{\text{cav}}} - 1 \right) \right] \right\}, \quad (3.7)$$

où : P_{cav} est la pression critique de cavitation et

$$\xi = 2 \ln \left(\frac{\Gamma_0 V \tau}{\ln 2} \right). \quad (3.8)$$

Γ_0 ($\text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$) est le taux de nucléation :

$$\Gamma_0 \cong \left(\frac{4}{3} \pi R_c^3 \right)^{-1} \frac{k_B T}{h}, \quad (3.9)$$

où T la température, k_B la constante de Boltzmann, h la constante de Planck et $R_c = 2\sigma / (P_{\text{sat}} - P_v)$ le rayon critique de la bulle de vapeur à partir duquel

la bulle continue à croître spontanément.

La pression de cavitation critique est alors donnée par :

$$P_{\text{cav}} = P_{\text{sat}} - \left(\frac{16\pi\sigma^3}{3k_{\text{B}}T} \frac{1}{\ln(\Gamma_0 V \tau / \ln 2)} \right)^{1/2}. \quad (3.10)$$

La rupture des forces de cohésion entre les molécules d'eau se produit à des pressions inférieures à -168 MPa à 20°C [Herbert 2005]. Cette pression de cavitation homogène est bien plus faible que la plus basse pression mesurée dans la sève du xylème qui est d'environ -13 MPa. Nous pouvons en conclure que la cavitation dans les vaisseaux du xylème n'est pas de type homogène dans les arbres.

La cavitation hétérogène

La théorie cinétique de la cavitation homogène peut être étendue pour décrire la cavitation hétérogène de la phase vapeur sur une paroi rigide lisse [Blander 1975]. L'énergie nécessaire pour former une bulle de vapeur au niveau d'une telle surface, E_{het} , est donnée par :

$$E_{\text{het}}(\mathcal{R}, \theta) = \frac{4}{3}\pi\mathcal{R}^2\theta F - \frac{4}{3}\pi\mathcal{R}^3 F(P_{\text{sat}} - P_{\text{v}}), \quad (3.11)$$

où \mathcal{R} le rayon de courbure de la bulle et $F = (2 + 3\cos\theta - \cos^3\theta)/4$, où θ est l'angle de contact de l'interface gaz/liquide. A l'équilibre mécanique, la barrière d'énergie à franchir pour que la cavitation soit hétérogène, $E_{\text{b,het}}(P_{\text{v}})$ est :

$$E_{\text{b,het}}(P_{\text{v}}) = \frac{16\pi\sigma^3 F^2}{3(P_{\text{sat}} - P_{\text{v}})}. \quad (3.12)$$

Cette barrière d'énergie à franchir diffère de celle de la nucléation homogène (eq. 3.6) uniquement par facteur F . Le seuil de cavitation hétérogène est :

$$P_{\text{cav,het}} = p_{\text{w,sat}} - \left(\frac{16\pi\sigma^3 F}{3k_{\text{B}}T} \frac{1}{\ln(\Gamma_0 V_{\text{het}} \tau / \ln 2)} \right)^{1/2}. \quad (3.13)$$

où V_{het} est le volume d'eau disponible pour la nucléation hétérogène. Qualitativement, l'équation 3.13 prédit que si la nucléation hétérogène est le mécanisme de cavitation prédominant, alors le seuil de cavitation diminuera avec l'angle de contact, θ . Pour valider cette prévision, des expériences ont été menées sur des hydrogels reproduisant le comportement du xylème [Wheeler 2009]. Son équipe a mesuré la probabilité de cavitation dans les pores pour différents hydrogels ayant des angles de contact différents. Le seuil de cavitation mesuré

est : $P_{\text{cav}} = -22.01$ MPa. Leurs observations suggèrent que la cavitation dans les pores de l'hydrogel est due à la cavitation hétérogène.

Au vu des pressions mises en jeu dans le xylème, la cavitation est à priori de type hétérogène. Nous pouvons nous demander la cause de l'apparition d'une telle cavitation dans le xylème. Plusieurs mécanismes de cavitation peuvent perturber la stabilité de l'eau liquide ce qui se produit dans les plantes qui sont représentées sur la figure 3.6. Ils comprennent la nucléation hétérogène facilitée par la présence d'impuretés, la nucléation des bulles dues à la présence de solutés ou gaz dissous dans le liquide, la croissance de bulles de vapeur à partir de nuclei préexistants dans la phase liquide ; la croissance d'un nucleus au niveau des parois ou d'une particule en suspension, et de l'invasion d'air dans la phase gazeuse au niveau des membranes par exemple.

La nucléation peut être facilitée si l'eau contient des gaz ou des solutés dissous ce qui est le cas dans la sève. Les impuretés peuvent être de deux types : des surfactants réduisant l'énergie de surface associés à la formation d'interfaces liquide-vapeur et donc réduisant la barrière d'activation de la cavitation ; ou des molécules dissoutes changeant la structure de l'eau en perturbant le réseau de pont hydrogène. Pour le cas de gaz dissous, ce mécanisme a été modélisé comme la formation d'interstices dans le liquide s'agrégeant pour former un nucleus de vapeur lorsqu'il a atteint sa taille critique. Il est possible de déterminer la probabilité de cavitation due à la présence de gaz ou de solutés dissous en comparant les expériences dans des hydrogels où le niveau de pureté de l'eau peut être changé.

Le mécanisme de nucléation à partir de nuclei de vapeur préexistants peut avoir lieu si des poches de gaz sont piégées dans les parois du xylème ou sur une impureté.

3.2.2 Dynamique de la bulle

Nous avons présenté les différents phénomènes hétérogènes provoquant l'apparition de bulles de gaz dans le xylème. Nous pouvons nous demander comment est la dynamique de cette bulle nucléée.

Des études ont été menées sur des arbres synthétiques, qui miment le comportement du xylème, dans le but d'étudier la dynamique de la bulle [Vincent 2012b]. La stabilité de l'eau à des pressions négatives peut être étudiée au moyen d'hydrogels où la tension est fixée par l'humidité relative de milieux environnants [Herbert 2006, Wheeler 2008, Noblin 2008, Moreau 2009,

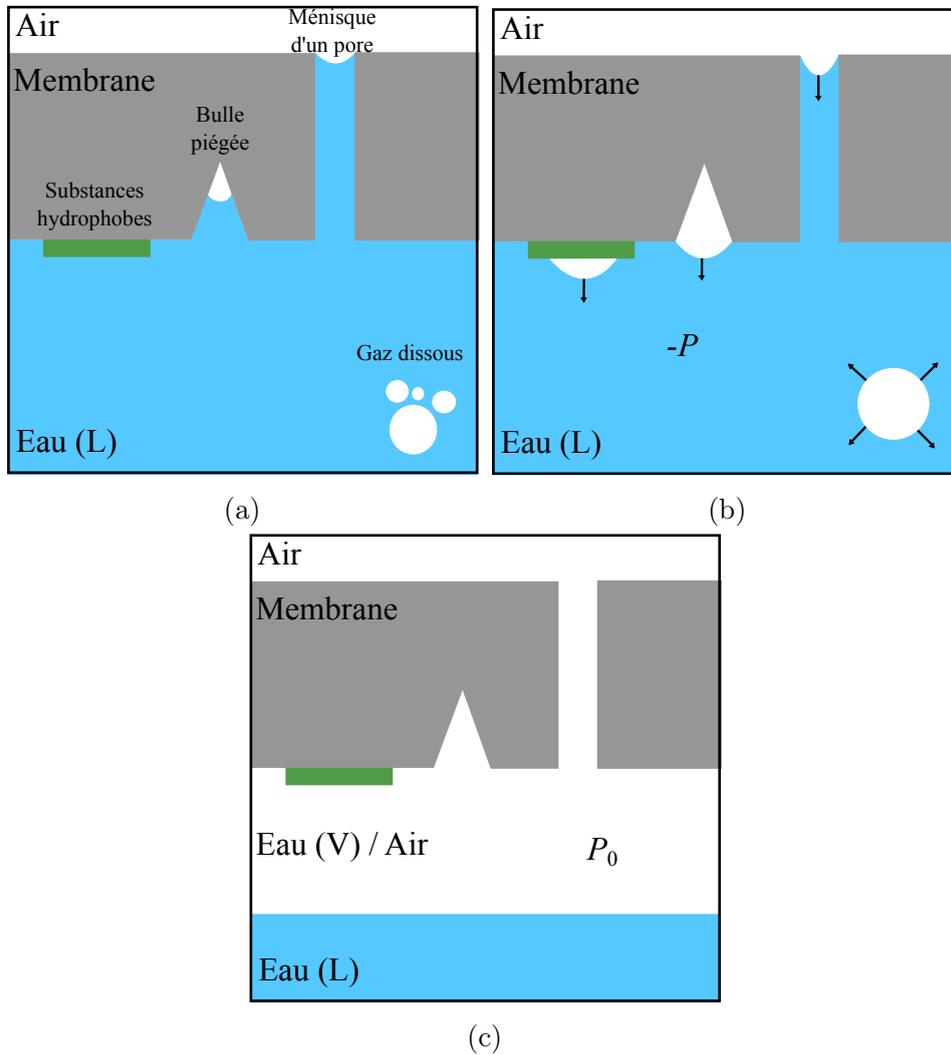


FIGURE 3.6 – Représentation schématique d’une cellule de xylème pouvant être sujette à un phénomène de cavitation de type hétérogène. Les différents mécanismes pouvant être la cause de la cavitation sont la présence de substances hydrophobes sur les parois de la membrane, la présence de gaz dissous dans la liquide, la présence d’une bulle piégée ou d’une impureté dans la membrane ou la présence d’un pore dans la membrane qui est reliée à du vide (a). Mécanismes de cavitation lorsque la pression dans le système, $-P$, diminue assez pour que la cavitation ait lieu. Les bulles croissent au niveau des zones sensibles à la cavitation (b). Représentation d’une cellule de xylème ayant cavité, un mélange gazeux de vapeur d’eau et d’air à la pression atmosphérique, P_0 a remplacé une partie de l’eau à l’état liquide (c) [Wheeler 2009].

[Wheeler 2009]. Cependant, de telles méthodes caractérisent uniquement l'état d'équilibre final sans révéler le processus de cavitation en lui-même. Vincent et al. (2012) ont proposé un modèle de la dynamique de la cavitation de l'eau dans une cavité d'un hydrogel [Vincent 2012a, Vincent 2012b]. La naissance d'une bulle se fait quasi-instantanément. L'énergie élastique stockée dans l'eau (E_p) est :

$$E_p = -\frac{1}{2}\Delta P V_b, \quad (3.14)$$

où V_b est le volume instantané de la bulle et ΔP le changement de pression dans le liquide dû à la compressibilité de l'eau. Si toute cette énergie est libérée en énergie cinétique $E_k = 3/2\rho_l V_b \dot{R}_b^2$ pour une bulle liquide de densité ρ_l , nous pouvons nous attendre à avoir des oscillations d'une vitesse maximale de $\dot{R}_b = (-\Delta P/3\rho_l)^{1/2} \sim 100$ m/s et d'un temps caractéristique de $\tau = R_b/\dot{R}_b$ d'environ $0.1 \mu\text{s}$ pour une bulle de rayon $R_b = 10 \mu\text{m}$ et une cavité de rayon $R_c = 40 \mu\text{m}$.

Après que la cavitation ait eu lieu, la bulle de vapeur se forme rapidement durant une période typique de 10^{-5} s. Ensuite, la bulle se remplit avec de l'air qui est dissous dans l'eau.

Après la rapide expansion de la bulle de volume initial : $V_{b,0}$, elle n'est pas statique mais croît lentement jusqu'à remplir entièrement la cavité. L'expansion de la bulle ($V_b - V_{b,0}$) augmente en fonction du temps à la puissance comprise entre 0.35 et 0.45.

Un modèle a été développé pour comprendre la croissance de la bulle. Lorsque la cavitation a lieu, la pression dans le liquide passe soudainement d'une valeur négative $P_l = -\Delta P$ à une valeur locale $P_l = P_g - 2\sigma/R_0$, où $2\sigma/R_0$ est la pression capillaire due à la tension de surface de l'eau et P_g la pression du gaz dans la bulle. Nous avons que $|P_l| \ll \Delta P$, ce qui change localement la pression osmotique Π définie par $\Pi = P - P_l$ dans le gaz proche de la cavité, où P est la tension isotropique extérieure. Un gradient de pression osmotique $\nabla\Pi$ se développe à travers le gel entraînant un écoulement d'eau q qui suit la loi de Darcy $q = -k(\phi)/\mu\nabla P_l = -k(\phi)/\mu\nabla\Pi$ où k est la perméabilité, μ la viscosité et ϕ la fraction volumique du polymère.

La conservation de la masse implique que $d\phi/dt = \phi\nabla\cdot q$. Un changement dans la fraction volumique provoque un changement de la pression osmotique, et l'équation précédente devient :

$$\frac{\partial\Pi}{\partial t} = K_{sw}\nabla\left(\frac{k}{\mu}\nabla\Pi\right) \approx D\nabla^2\Pi, \quad (3.15)$$

où $K_{sw} = \phi \frac{\partial \Pi}{\partial \phi}$. La teneur en eau et la pression osmotique suivent une équation de diffusion dont le coefficient de diffusion est $D = K_{sw}k/\mu$.

La diffusion de pression entraîne un débit qui suit la loi suivante :

$$q = \frac{k}{\mu} \frac{\Delta P}{\sqrt{\pi D t}}, \quad (3.16)$$

Le volume transféré est donc $dv_l/dt = qS$, où la surface $S = 4\pi R_c^2$. Sous l'hypothèse que le volume de la cavité est constant, le volume de la bulle V_b ayant un volume initial V_0 , évolue suivant l'équation :

$$\frac{V_b}{V_0} = \left(1 + \frac{t}{t_\alpha}\right)^n, \quad (3.17)$$

où $n = 1/2$ et $t_\alpha = \pi(R_c^2/D)[(K_{sw}V_0)/(6\Delta P V_c)]^2$, représentant le temps qu'il faut à la bulle pour doubler. Cette équation explique l'évolution temporelle de la croissance de la bulle nucléée. Ce modèle a été développé expérimentalement en étudiant la cavitation dans des hydrogels.

3.3 Objectifs de la thèse

Les deux premiers chapitres de cette thèse nous montrent que la physique de l'arbre est complexe.

Le transport de l'eau dans les arbres a lieu à des pressions largement négatives et un risque de rupture des colonnes de sève est possible. Durant les deux dernières décennies, les biologistes ont étudié des phénomènes de cavitation et d'embolie et ont accumulé de nombreuses informations. Cet état peut engendrer des phénomènes de cavitation. Au vu des pressions mises en jeu dans le xylème, la cavitation ne peut être que de type hétérogène. Les bulles de vapeur apparaissent donc au niveau des parois des cellules, d'impuretés ou de gaz dissous dans le liquide. Des études ont permis de comprendre la dynamique de croissance de bulles nucléées dans un vaisseau.

Le risque de cavitation varie considérablement d'une espèce à l'autre et cela joue aussi profondément sur leurs besoins en eau et sur leurs préférences climatiques. Nous avons décidé de n'étudier qu'une seule espèce d'arbres qui est le *Populus deltoides* \times *Populus nigra*. Cette espèce est un angiosperme. La structure des punctuations est différente de celle des gymnospermes. Ces différences structurelles changent les mécanismes de résistance à la cavitation. Nous nous limiterons dans cette étude à la configuration des angiospermes.

L'embolie peut provoquer la mort des arbres. La propagation de l'embolie est différente suivant les espèces. Cette différence de résistance selon les espèces est due à la structure des ponctuations. Cette observation suggère qu'il existe un couplage perméabilité au gaz - structure des ponctuations. Nous allons nous attacher à comprendre ce couplage pour l'espèce que nous étudions. Afin de comprendre ce couplage, nous avons développé des approches locales. Aucune étude n'a été faite à petite échelle sur les propriétés des ponctuations. Nous essayerons de valider par ces approches l'hypothèse controversée de pores dans les ponctuations.

Structure et nano-mécanique d'une ponctuation

Sommaire

4.1	Etude bibliographique	46
4.2	Microscopie à force atomique	48
4.2.1	Principe	49
4.2.2	Appareillage : le microscope à force atomique	52
4.3	Caractérisation des ponctuations du peuplier	53
4.3.1	Le mode Tapping	54
4.3.2	Les pointes utilisées pour le mode tapping	58
4.3.3	Topographie de la surface	58
4.4	Nano-mécanique des ponctuations du peuplier	65
4.4.1	Mesures propriétés mécaniques locales	66
4.4.2	Expériences nano-mécaniques d'échantillons secs	72
4.4.3	Expérience de nano-mécanique des échantillons saturés en eau	83
4.5	Conclusion	86

Nous avons émis l'hypothèse que la paroi primaire des ponctuations était poreuse. Cette forte supposition est la base du modèle de fonctionnement des ponctuations que nous souhaitons proposer. Dans le but de démontrer la porosité des parois primaires et de connaître les dimensions exactes des différents composants dont les ponctuations sont constituées, nous allons utiliser des outils microscopiques pour caractériser sa surface. Le couplage entre la microscopie optique et la microscopie à force atomique (AFM) sera utilisé pour étudier la topographie de la ponctuation à la fois à l'échelle microscopique et nanométrique.

Afin de comprendre le fonctionnement des ponctuations lors de l'apparition et de la propagation d'embolie gazeuse, nous souhaitons aussi mesurer leurs propriétés nano-mécaniques. Cela permettra de modéliser leurs comportements lorsqu'elles sont soumises à des variations de pression. L'AFM est un des outils qui permet la caractérisation des propriétés nano-mécaniques avec une excellente résolution latérale. Il sera utilisé pour déterminer les modules d'Young des différentes parties des ponctuations.

Après une courte étude bibliographique, nous décrirons le mode de fonctionnement de l'AFM. Puis nous détaillerons la structure des ponctuations observées et nous présenterons l'étude de leurs propriétés mécaniques.

4.1 Etude bibliographique

La structure des ponctuations joue un rôle important sur les mécanismes de résistance à la propagation des microbes et surtout à l'embolie gazeuse [Wheeler 2005, Choat 2006, Hacke 2006]. Nous avons vu dans la section précédente que la présence de pores dans la paroi primaire des ponctuations peut être la source des phénomènes de cavitation. Elles sont aussi un passage causant la propagation de l'embolie [Zimmermann 1983, Tyree 1989]. L'étude à l'échelle microscopique des ponctuations révèle des différences considérables dans la structure des membranes des ponctuations intervasculaires. Des variations aussi importantes dans la structure des ponctuations présagent des conséquences importantes dans les fonctions vasculaires [Sano 2004, Sano 2005]. En effet, des modifications dans l'épaisseur ou la porosité des membranes peuvent exercer une influence significative sur leur fonction hydraulique dans la plante. La pression nécessaire à la propagation du gaz dépend essentiellement de la taille des pores. La connaissance de cette pression nous donnera des informations sur la porosité de la membrane.

La structure des ponctuations a été caractérisée au moyen de techniques d'imagerie telles que la microscopie électronique à balayage (MEB) et à transmission (MET) ou la microscopie à force atomique (AFM). Les ponctuations des conifères ont été imagées en microscopie électronique [Petty 1969, Thomas 1969, Bauch 1972, Dute 2008]. La paroi primaire composée d'un torus a pu être observée par ce type de microscopie. Chez les angiospermes, les membranes homogènes, dont la densité de microfibrilles est relativement uniforme, ont aussi pu être visualisées par microscopie électronique [Schmid 1965, Ohtani 1978, Dute 1987, Dute 2004, Jansen 2004, Jansen 2007]. La structure des ponctuations a surtout été étudiée par MEB. Les études menées en MET concernent un nombre faible d'espèces; Wheeler et al. ont étudié une douzaine d'espèces de feuillus avec cette technique. Ce faible nombre d'espèces étudiées en MET est dû au temps de préparation des échantillons qui est élevé. L'utilisation de la microscopie électronique pour l'étude de la micromorphologie des ponctuations pose la question de la modification de leur structure lors de la préparation des échantillons [Choat 2003, Pesacreta 2005, Jansen 2008]. Pour les observations en MEB, la préparation exige des traitements chimiques, la déshydratation des tissus et le placement sous vide durant l'observation. Il est raisonnable de penser qu'une telle préparation modifie la structure des ponctuations. Shane et al. (2000) ont examiné les membranes des ponctuations présentes dans des racines de maïs en utilisant la méthode de cryoMEB qui conserve les membranes dans un état hydraté. A partir des images en cryoMEB, ils n'ont pas pu observer de pores sur la membrane des ponctuations. Le diamètre maximal des pores mesuré par des expériences d'injection de particules est de 4.9 ± 0.7 nm pour l'espèce de maïs [Shane 2000]. Des études en MEB conventionnel n'ont pas permis de révéler la présence de pore au sein des membranes de feuillus [Wheeler 1981, Wheeler 1983, Choat 2003]. L'utilisation de l'AFM pour caractériser la structure des ponctuations de *Sapium Sebiferum* dans des états secs et hydratés fournit une explication à l'absence de pore sur les images de membranes en MEB [Pesacreta 2005]. Pesacreta et al. (2005) ont observé que les membranes des ponctuations sèches ont une apparence plus compacte que sur les membranes saturées en eau sur lesquelles les microfibrilles sont librement arrangées. En effet, l'épaisseur de la membrane primaire sèche est comprise entre 50 et 100 nm alors que l'épaisseur sur des échantillons saturés en eau est comprise entre 90 et 225nm. Les observations AFM indiquent que les pores présents sur les membranes hydratées sont dissimulés par le réarrangement des microfibrilles et par la redistribution de substances non-cellulosiques lors du séchage de la membrane. Jansen et al. (2009) proposent une étude comparative sur 26 espèces de feuillus entre l'utilisation des techniques de MEB et de MET [Jansen 2009]. L'épaisseur des membranes primaires est comprise entre 70 et 1892 nm et le diamètre

maximum des pores observés quant à lui est compris entre 10 et 225 nm. Les résultats de microscopie ont été comparés aux résultats des expériences d'injection d'air permettant d'estimer la taille des pores sur des branches hydratées et intactes. Ils en ont conclu que les images en MEB sous-estiment la porosité de la paroi membrane.

Dans le but de ne pas altérer la structure, nous avons choisi d'utiliser l'AFM qui n'est pas intrusif et qui ne nécessite aucun traitement chimique, aucune coloration, aucun dépôt de revêtement. Il n'est pas nécessaire de placer l'échantillon sous vide. L'AFM permet d'étudier les échantillons biologiques dans leur état d'origine. L'AFM est un outil complet permettant d'étudier la topographie des surfaces étudiées ainsi que leurs propriétés nano-mécaniques.

Il existe peu d'études topographiques de la structure des ponctuations réalisées par AFM [Pesacreta 2005]. Cependant, dans la littérature, nous trouvons des études microscopiques réalisées avec un AFM sur différents éléments constitutifs du bois comme les parois cellulaires [Kirby 1996, Pesacreta 1997, Thimm 2000] mais aussi sur certains composants chimiques des organes des plantes [Kirby 1995a, Kirby 1995b, Round 1997, Shevchenko 1998, Rief 1997]. L'ensemble de ces études nous prouvent que l'AFM est un outil adapté pour étudier des systèmes biologiques tels que le bois. Il convient donc à l'étude des ponctuations du xylème.

4.2 Microscopie à force atomique

L'outil que nous avons choisi pour étudier la surface ainsi que les propriétés mécaniques des échantillons de bois est le microscope à force atomique (AFM). Cet outil est adapté à notre problématique puisque l'on peut cartographier la surface d'un échantillon avec une précision nanométrique et obtenir des données sur les propriétés mécaniques à la même échelle. Nous allons dans cette partie expliquer le principe de fonctionnement de l'AFM.

L'AFM est un outil complexe puisqu'à l'échelle nanométrique, les forces interatomiques telles que les forces électrostatiques, de Van der Waals, etc ... ne sont plus négligeables et doivent être prises en compte. L'AFM s'appuie sur ces forces pour caractériser l'état de surface des matériaux, et même un certain nombre de leurs propriétés physicochimiques (électriques, magnétiques, mécaniques, etc...), indépendamment de la nature chimique de l'échantillon. L'AFM se classe parmi les techniques de microscopie à champ proche développées dans les années 80. Cette série a commencé par le développement des microscopes à effet tunnel (STM) permettant d'imager des matériaux conducteurs ou semi-conducteurs. Cet outil a permis pour la première fois de

visualiser des atomes sur des surfaces extra-plates. Le dernier instrument de cette série est l'AFM qui doit son invention en 1985 aux physiciens allemand et suisse Gerd Binnig et Heinrich Rohrer ayant tous les deux obtenus le prix Nobel de physique en 1986 [Binnig 1986].

Son champ d'application est donc extrêmement vaste. La méthode est employée pour visualiser des structures à l'échelle nanométrique, réaliser des topographies tridimensionnelles, détecter les défauts de surface de tous types de matériaux, visualiser des domaines magnétiques, et même déterminer les propriétés d'échantillons biologiques tels que leur module d'Young ou leur rugosité.

4.2.1 Principe

La figure 4.1 représente une description du dispositif expérimental mis en œuvre en AFM [Aimé 2002b].

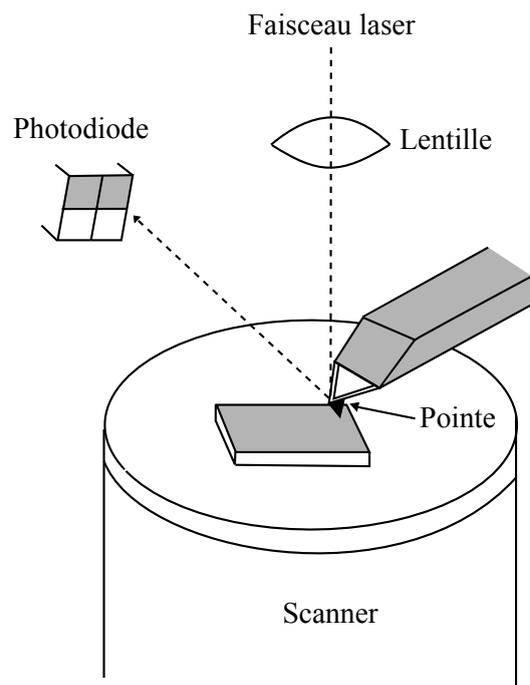


FIGURE 4.1 – Description du dispositif expérimental en AFM

Une pointe, placée à l'extrémité d'un micro-levier souple, balaye la surface à analyser. La pointe a un rayon compris entre 1 nm et 10 μm et une hauteur maximale de 10 μm . Les forces s'exerçant entre la pointe et la surface provoquent une déflexion du levier. La raideur en flexion du microlevier

est comprise entre 10^{-2} et 10^2 N/m. Le système microlevier-pointe peut être grossièrement assimilé à un système ressort et la force de rappel du ressort, égale au produit de la raideur en flexion du microlevier k_l par sa déflexion Δz , est en équilibre avec la force d'interaction pointe-surface correspondant à la distance de séparation d (Fig. 4.2).

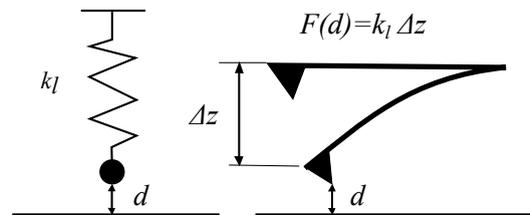


FIGURE 4.2 – Le microlevier de l'AFM est assimilable à un ressort dont l'allongement est fonction de la force d'interaction pointe-surface.

La détection de la déflexion est optique. Elle se fait au moyen d'un faisceau laser dirigé vers l'extrémité du microlevier et réfléchi vers un système de photodiode à quatre cadrans. La différence d'éclairement entre ces cadrans est proportionnelle à la déflexion angulaire du microlevier au point d'impact du laser. La présence des quatre cadrans permet non seulement de détecter le mouvement de flexion mais aussi la détection du mouvement de torsion du microlevier lorsque la pointe sera soumise à un phénomène de friction.

L'échantillon peut être déplacé dans les trois directions par rapport à la pointe fixe à l'aide de tubes piézoélectriques. La sensibilité de ces tubes est de l'ordre de 1 à 100 nm/V. Une précision de l'ordre du millivolt dans les tensions de commande permet des déplacements avec une précision meilleure que l'Angström. Sur certains AFM, la pointe se déplace sur l'échantillon. Cette configuration autorise l'analyse des grands échantillons et le travail en milieu liquide. Les principaux problèmes liés à l'utilisation des tubes piézoélectriques résultent des phénomènes d'hystérésis et de la non linéarité de la relation tension-déformation sur l'ensemble de leurs domaines d'utilisation. Ces déviations à la linéarité sont d'autant plus importantes que les tensions appliquées sont élevées. Pour minimiser ces effets, on utilise dans la pratique des tubes dont l'excursion est adaptée à l'échelle de l'étude, c'est-à-dire de quelques nanomètres à une centaine de micromètres.

L'image topographique d'un échantillon est obtenue en affichant la déflexion du micro-levier en fonction de sa position sur l'échantillon. L'obtention d'images topographiques de la surface peut se faire en maintenant la force d'interaction pointe-échantillon constante au cours du balayage de la zone

étudiée. Les déplacements verticaux du scanner électromagnétique nécessaires pour maintenir la distance pointe-échantillon constante sont alors enregistrés et servent à la reconstitution du relief de l'échantillon. Au cours du balayage horizontal de la pointe, le signal sur la photodiode est mesuré et comparé dans l'unité de contrôle à un signal de référence. Une boucle de contre-réaction ajuste en continu la position verticale du cantilever afin d'annuler cette différence, c'est-à-dire afin de maintenir la déflexion du levier et donc la force d'interaction pointe-échantillon constante. Il en ressort un signal d'erreur. Ce signal est envoyé au tube piézoélectrique et a pour effet de provoquer des déplacements verticaux de l'échantillon. Ces déplacements verticaux sont enregistrés et utilisés pour la création d'une image qui reflète le relief de la surface ; la validité de cette image étant limitée par les effets dits de "dilatation". Les images topographiques peuvent aussi être obtenues en mesurant la variation de l'amplitude d'oscillation de la pointe. Cette variation est utilisée comme signal d'asservissement afin de corriger le déplacement en z , pour conserver l'amplitude constante et ainsi suivre la morphologie de surface.

Une première approche pour décrire les forces mises en jeu en microscopie à force atomique consiste à considérer l'énergie d'interaction qui existe entre deux atomes non liés. Cette énergie s'exprime sous la forme d'un potentiel de Lennard-Jones. Ce potentiel est la combinaison d'une interaction essentiellement attractive de van der Waals qui prédomine à "grande distance" de séparation et d'une interaction répulsive qui intervient de façon prépondérante à "faible distance" lorsque les orbitales atomiques tendent à s'interpénétrer, c'est le principe d'exclusion de Pauli. La figure 4.3 montre la force entre les atomes à l'extrémité de la pointe AFM et la surface en fonction de la distance entre la pointe et la surface. Lorsque la pointe s'approche de l'échantillon, une force attractive (van der Waals) augmente jusqu'à un maximum avant de diminuer jusqu'à ce que la force devienne répulsive (Pauli). Ces forces attractives et répulsives sont la base des différents modes d'utilisation de l'AFM. L'AFM peut être utilisé dans un mode de contact, de contact intermittent ou de non-contact. Le potentiel de Lennard-Jones permet de représenter ces différentes régions (Fig. 4.3).

En sommant les forces interagissantes entre chaque atome, la force attractive de van der Waals entre une sphère et un plan séparés d'une distance d est donnée par l'expression (eq. 4.1) [Butt 2005] :

$$F_{vdw}(d) = -\frac{HR}{6d^2} \quad (4.1)$$

où :

- H la constante de Hamaker, comprise entre 10^{-19} – 10^{-21} J ;

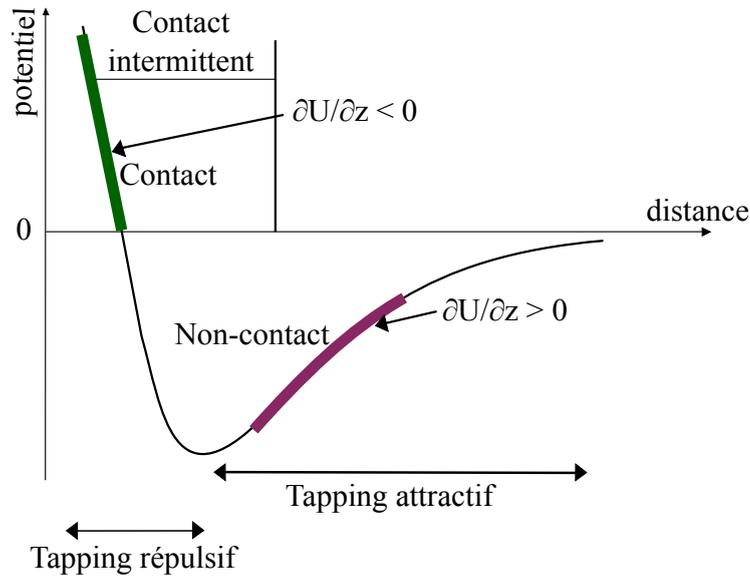


FIGURE 4.3 – Potentiel d'interaction de Lennard-Jones

- R le rayon de courbure de la pointe à son apex.

Dès lors que la sphère et le plan arrivent en contact, cette force attractive atteint une valeur maximale qui correspond à la force d'adhésion, F_{adh} . La force d'adhésion permet de différencier les modes AFM en une catégorie statique et une catégorie dynamique : la catégorie statique correspond au mode contact tandis que la catégorie dynamique correspond au mode non-contact tel que le mode "tapping".

4.2.2 Appareillage : le microscope à force atomique

L'étude de la surface des échantillons à l'échelle nanoscopique a été réalisée au Centre Inter-universitaire de Recherche et d'Ingénierie des Matériaux (CIRIMAT, UMR CNRS 5085), INPT où un AFM est mis à disposition par FERMAT. Le microscope utilisé est un Agilent 5500 SPM piloté par une électronique Head Electronics Box contrôlant les signaux de déflexion ou friction ainsi que l'oscillation de tension fournie au piezo. L'utilisation du microscope et l'analyse des images se fait à l'aide du logiciel PicoView version 1.8.2. Le microscope est placé dans un caisson anti-vibration. La température de la pièce est contrôlée à une valeur de 20°.

Les caractéristiques techniques de ce microscope sont les suivantes :

- Dimension des images : comprise entre 1 nm et 50 μm de côté ;
- Vitesse de balayage : comprise entre 0,02 ligne/s et 24,41 lignes/s ;

- Résolutions latérale et verticale maximales de l'ordre de l'Angström ;
- Nombre de points par image : 8192 points par ligne pour 8192 lignes au maximum.

Pour notre étude topographique, la surface des images était comprise entre $(1 \mu\text{m})^2$ et $(30 \mu\text{m})^2$. Les images sont constituées de 512 points par ligne pour 512 lignes. La vitesse d'acquisition de nos images est comprise entre 0,1 et 1 ligne/s.

L'AFM est couplé à un système optique permettant de localiser une zone d'étude sur l'échantillon. Le système de vidéo est aligné avec le laser qui est dirigé sur la pointe de l'AFM. Ce système permet un grossissement $\times 10$ de l'échantillon étudié. L'intensité de la lumière de la caméra optique est trop faible pour visualiser les échantillons de bois analysés par AFM. Pour résoudre ce problème de visualisation optique, plusieurs solutions s'offrent à nous :

- placer des fibres optiques dans la section d'essais ;
- utiliser un microscope optique couplé à un AFM afin de placer précisément la pointe sur la zone d'étude voulue ;
- localiser les ponctuations par microscopie optique avant observation en AFM.

Cette dernière solution a été choisie. Elle nous permet de réduire la zone de recherche et donc de trouver plus rapidement la zone souhaitée. Les mesures que nous avons réalisées sont difficiles à mettre en œuvre : elles ne permettent pas de réaliser un grand nombre d'expériences nécessaires pour assurer une large statistique.

4.3 Caractérisation des ponctuations du peuplier

L'étude topographique des surfaces des ponctuations a été effectuée essentiellement sur des échantillons secs. Les échantillons proviennent de branches de *Populus deltoides* \times *Populus nigra*. Les branches utilisées proviennent du même individu se situant dans le verger du laboratoire PIAF de l'INRA-Clermont-Ferrand. Les branches que nous avons utilisées pour réaliser les expériences ont été coupées durant la période de croissance de l'arbre en 2011. Les échantillons sont des carrés de 10 mm de côté et de 60 μm d'épaisseur. Les échantillons ont été coupés au microtome à glissière puis ont été séchés à température ambiante pendant 15 jours avant utilisation. Après découpe, ils sont fixés sur des wafers de silicium. Avant d'être observés avec l'AFM, les échantillons sont observés avec un microscope optique, dans le but de situer

une zone d'étude contenant des ponctuations.

Le mode de fonctionnement de l'AFM que nous avons choisi d'utiliser dans cette partie est le mode "Tapping". Ce mode de fonctionnement sera introduit avant de présenter les résultats concernant la micro-structure des ponctuations.

4.3.1 Le mode Tapping

Le mode "Tapping" ou "contact intermittent" est un mode dans lequel la pointe vient toucher ou frôler la surface d'un échantillon par intermittence. La pointe de l'AFM, excitée par un piézoélectrique, oscille au-dessus de la surface de l'échantillon. L'oscillation a une amplitude A et une période T_0 ; elle permet à la pointe de se rapprocher et de s'éloigner périodiquement de la surface (Fig. 4.4) [Aimé 2002a].

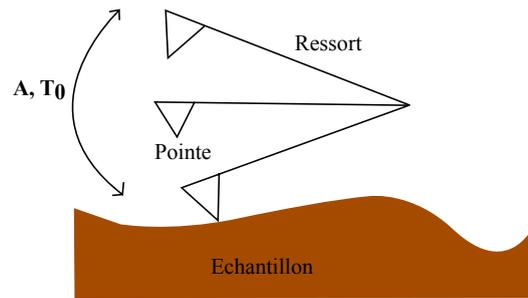


FIGURE 4.4 – Interaction pointe-échantillon dans le mode Tapping

Le système pointe-micro-levier peut être assimilé à un oscillateur de type masse-ressort. Le mouvement de la pointe $z(t)$ peut être décrit par une équation différentielle du second ordre :

$$m\ddot{z} + \frac{m\omega_0}{Q}\dot{z} + k_l z = F(z) + F_1 \cos(\omega t), \quad (4.2)$$

où F_1 et ω sont l'amplitude et la pulsation propre de la force motrice. ω_0 est la pulsation propre donnée par $\omega_0 = \sqrt{k_l/m}$ et Q est le facteur de qualité du système pointe-micro-levier qui correspond à la largeur à mi-hauteur du spectre de résonance. Dans la relation permettant de déterminer la pulsation de résonance, k_l est la raideur du micro-levier et m la masse du système pointe-microlevier.

F contient les forces d'interactions de la pointe sur la surface de l'échantillon. Lorsque le micro-levier est en oscillation libre ($F = 0$), l'équation (4.2)

décrit le mouvement d'un oscillateur harmonique amorti. Dans ce cas, la solution de cette équation a la forme suivante :

$$z = A_c \cos(\omega t + \phi_c) + B \exp(-t/\tau) \cos(\omega_r t + \beta), \quad (4.3)$$

où A_c est l'amplitude d'oscillation du mouvement du micro-levier, ϕ_c la différence de phase entre la force motrice et le mouvement du micro-levier et ω_r la pulsation de résonance du micro-levier due aux effets amortis. Le premier terme de l'équation (4.3) est la solution en régime permanent alors que le second terme correspond au régime transitoire. Le terme $\tau = 2Q/\omega_0$ est la constante de temps. Le mouvement sinusoïdal du micro-levier est caractérisé par :

$$A_c(\omega) = \frac{F_0}{m \sqrt{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \frac{\omega_0^2 \omega^2}{Q^2}}}. \quad (4.4)$$

$$\tan(\phi_c) = \frac{\omega \omega_0}{Q(\omega_0^2 - \omega^2)} \quad (4.5)$$

En mode tapping, les amplitudes varient généralement de 10 à 100 nm.

A la pulsation propre, $A_c(\omega_0) = QF_0/k_l$. La pulsation de résonance avec amortissement, ω_r est reliée à la pulsation de résonance libre ω_0 par :

$$\omega_r = \omega_0 \sqrt{1 - \frac{1}{2Q^2}}. \quad (4.6)$$

Considérons maintenant la force totale F_T agissant sur le micro-levier. Pour des petits déplacements par rapport à la position d'équilibre z_0 , F_T peut s'écrire :

$$F_T = F_0 - \left(k_l - \frac{\partial F}{\partial z} \right)_{z_0} (z - z_0). \quad (4.7)$$

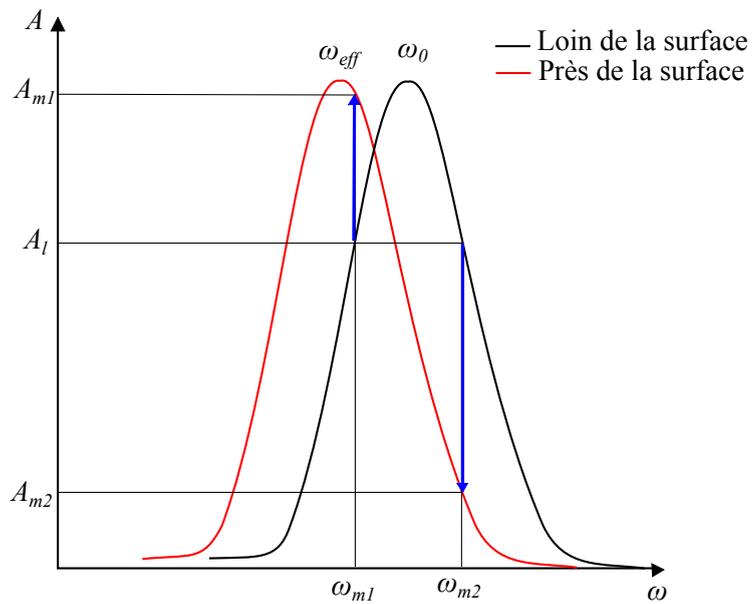
L'équation 4.2 décrit alors le mouvement d'un oscillateur harmonique avec une raideur effective k_{eff} :

$$k_{eff} = k_l - \left(\frac{\partial F}{\partial z} \right)_{z_0}, \quad (4.8)$$

et une pulsation de résonance ω_{eff} :

$$\omega_{eff} = \omega_0 \sqrt{1 - \frac{\frac{\partial F}{\partial z}}{k_l}}. \quad (4.9)$$

Les pointes, utilisées pour le mode tapping, ont une raideur du cantilever de l'ordre de plusieurs dizaines de N/m, la fréquence de résonance f_0 peut varier de 50 à 300 kHz et le facteur de qualité est proche de 100 à l'air.



$\omega_{m1} < \omega_0 =$ Tapping répulsif

$\omega_{m2} > \omega_0 =$ Tapping attractif

FIGURE 4.5 – Evolution de l'amplitude en fonction de la fréquence d'oscillation du cantilever

Pour mieux comprendre, nous pouvons nous reporter à la figure 4.5. Deux spectres de résonance sont représentés. Le spectre obtenu loin de la surface et le spectre obtenu près de la surface à une distance d qui est décalée vers les basses fréquences. En effet en mode tapping, la position moyenne des oscillations se trouve dans la zone où le gradient de force est positif [Garcia 1999]. Lorsque la pointe se rapproche, le gradient de force augmente et la fréquence de résonance diminue. Cet effet peut être exploité en choisissant une fréquence d'oscillation du cantilever ω_m différente de ω_0 . Dans le mode tapping, la fréquence est choisie de telle sorte que l'amplitude libre A_l soit un certain pourcentage de l'amplitude maximale. Selon que la fréquence choisie soit supérieure (Upper band, $A_l > A_{max}$) ou inférieure (Lower band, $A_l < A_{max}$), on aura deux comportements spécifiques.

Si nous nous plaçons à droite du pic ($\omega_{m2} > \omega_0$), en nous rapprochant de la surface, le spectre se déplace et se retrouve centré sur ω_{eff} . L'amplitude A va diminuer jusqu'à la valeur A_{m2} . L'amplitude sera alors inférieure à la distance pointe-échantillon et la pointe ne viendra pas au contact de la surface. Elle viendra uniquement la frôler par intermittence, en restant dans le domaine attractif; on parle alors de "tapping attractif". La boucle de contre-réaction maintient l'amplitude de travail A_{m2} constante au cours du balayage.

Si nous nous plaçons à gauche du pic ($\omega_{m1} < \omega_0$), en nous rapprochant de la surface, l'amplitude libre A aura alors tendance à augmenter jusqu'à la valeur A_{m1} . L'amplitude sera du même ordre de grandeur que la distance pointe-échantillon et la pointe aura alors toutes les chances d'entrer périodiquement en contact avec la surface. On parle alors de "tapping répulsif". La boucle de contre-réaction maintient l'amplitude de travail A_{m1} constante au cours du balayage.

Dans la réalité, le champ de force près de la surface est non-linéaire (potentiel de Lennard-Jones). Le gradient de potentiel est d'abord positif, c'est-à-dire attractif, puis négatif, c'est-à-dire répulsif (Fig. 4.3).

Dans le domaine de "tapping attractif", le levier ne dépasse pas le domaine attractif tandis que dans le domaine de "tapping répulsif", il traverse à la fois les domaines attractif et répulsif. Le spectre de résonance du système est asymétrique. Cependant dans les deux cas, la position moyenne de l'amplitude d'oscillation se situe toujours dans le domaine attractif et la pulsation de résonance effective du système ω_{eff} est inférieure à ω_0 .

- En mode tapping, le logiciel PicoView nous propose trois types d'image :
- l'image topographique qui représente le relief de la surface ;
 - l'image en amplitude qui représente l'amplitude d'oscillation du microlevier à une fréquence proche de la fréquence de résonance (eq. (4.4)) ;
 - l'image en phase qui représente la différence de phase entre la phase loin

de la surface et la phase en contact avec la surface (eq. (4.5)) .

Le mode tapping permet d'obtenir des hautes résolutions latérales de 1 à 5 nm. Les forces appliquées sont faibles et provoquent moins de dommages sur les échantillons mous tels que les échantillons biologiques ou des polymères ... De plus, les forces latérales sont éliminées et ne provoquent pas d'usure par friction. La pointe passe moins de temps en contact ou à proximité de la surface ce qui permet de limiter l'usure de la pointe dans le temps.

Le mode tapping ne permet pas de faire des balayages aussi rapides que le mode contact. Pour de grandes images, le temps d'acquisition peut être très long et atteindre plusieurs dizaines de minutes.

Le balayage de la pointe ne modifiera pas l'organisation structurale des zones étudiées. Ce mode AFM est donc adapté à l'étude de la structure de nos échantillons de bois.

4.3.2 Les pointes utilisées pour le mode tapping

Pour effectuer la topographie des échantillons, le mode tapping a été utilisé. Les pointes que nous avons utilisées dans ce mode sont des pointes "Nanotools®" modèle "ACT tips (single crystal-silicon)" (Fig. 4.6) dont les caractéristiques sont :

- rayon de la pointe $R = 10$ nm ;
- épaisseur du cantilever $t = 4,5$ μm ;
- longueur du cantilever $l = 125$ μm ;
- largeur du cantilever $w = 35$ μm ;
- raideur du cantilever $k = 25 - 75$ N.m^{-1} ;
- fréquence de propre du cantilever $f_0 = 300$ kHz.

4.3.3 Topographie de la surface

Dans cette section, nous présentons l'analyse topographique d'une ponctuation de peuplier. Nous étudierons la micro-structure de la paroi primaire et nous essayerons de déceler la présence de pores sur cette paroi.

L'AFM nous permet de visualiser des zones carrées de 50 μm de côté. Ces images de grandes tailles peuvent être comparées aux images obtenues en microscopie optique. Une comparaison entre les images obtenues en microscopie optique et AFM peut être observée sur la figure 4.7.

Nous pouvons voir sur ces deux images que les ponctuations sont regroupées au niveau des parois terminales des vaisseaux. Sur les ponctuations

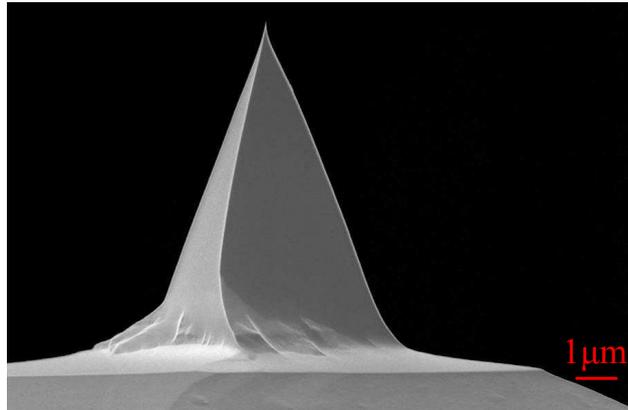
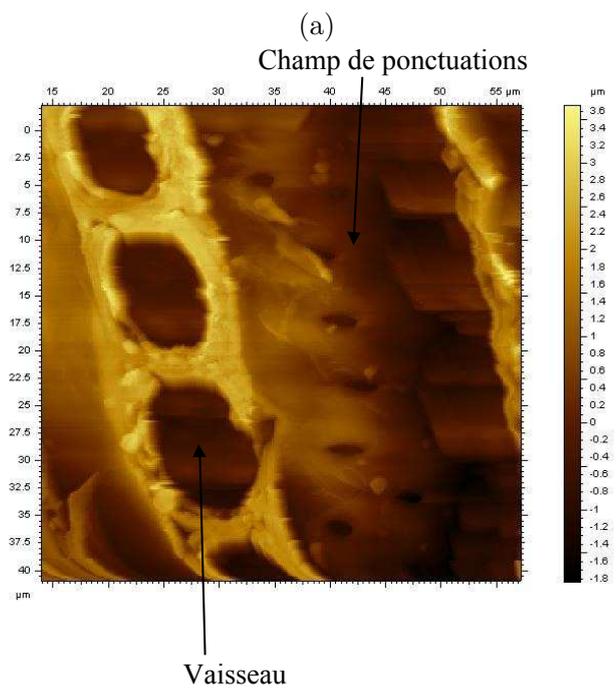
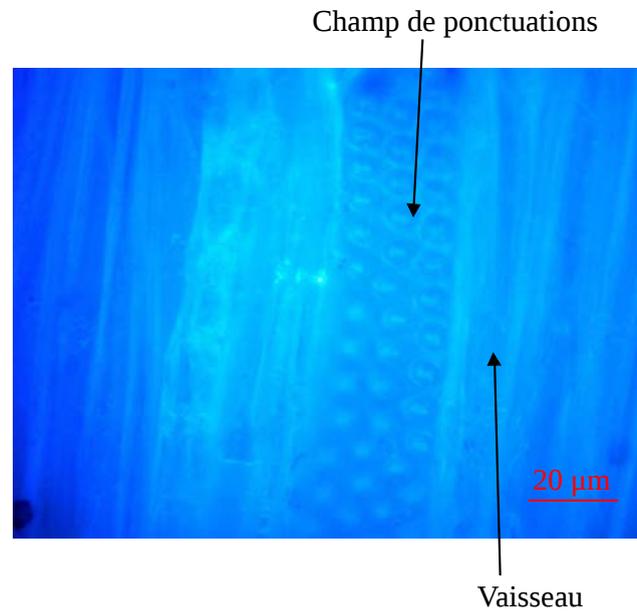


FIGURE 4.6 – Pointe tapping “Nanotools®” modèle “ACT tips (single crystal-silicon)”

de l’image en microscopie optique (Fig. 4.7a), la partie la plus claire au centre de la ponctuation correspond à la paroi primaire alors que sur l’image en AFM (Fig. 4.7b), elle correspond à la partie la plus sombre. Sur l’image optique, de chaque côté de la paroi terminale, nous visualisons les vaisseaux adjacents du xylème. Sur l’image en AFM, ces vaisseaux peuvent aussi être visualisés sur les zones à gauche du champ de ponctuations. Le nombre de ponctuations que nous pouvons voir sur une image AFM reste beaucoup plus faible que celui observé en optique. La microscopie optique nous permettra d’étudier l’organisation des parois terminales ainsi que de mesurer le diamètre des vaisseaux. Nous avons pu compter le nombre de ponctuations au niveau des extrémités des vaisseaux (n_{pit}) à l’aide des images en microscopie optique. Nous avons trouvé que n_{pit} était de l’ordre de 84 ± 10 ; ce nombre est une moyenne calculée sur 30 images.

Nous allons maintenant nous placer à l’échelle d’une ponctuation. Les images AFM auront une grandeur maximale de $20 \mu\text{m}$ de côté. Les vaisseaux de xylème sont coupés longitudinalement. Ce type de coupe n’endommage pas la majorité des ponctuations. En AFM, nous pouvons imager la paroi primaire ainsi que la paroi secondaire des ponctuations. Cependant, lors de l’étude topographique, nous avons fait face à des problèmes de coupe qui nous ont empêchés de voir entièrement les ponctuations : nous pouvons observer sur l’image (Fig. 4.8) que les ponctuations sont parfois partiellement recouvertes par la paroi d’un vaisseau.

Après plusieurs essais, nous avons pu imager des ponctuations complètes (Fig. 4.9). Les ponctuations ont une forme de losange aux extrémités arrondies.



(b)

FIGURE 4.7 – Paroi terminale d'un vaisseau de xylème où l'on observe un champ de ponctuations : (a) en microscopie optique (mode fluorescence $\times 100$); (b) en AFM (mode tapping).

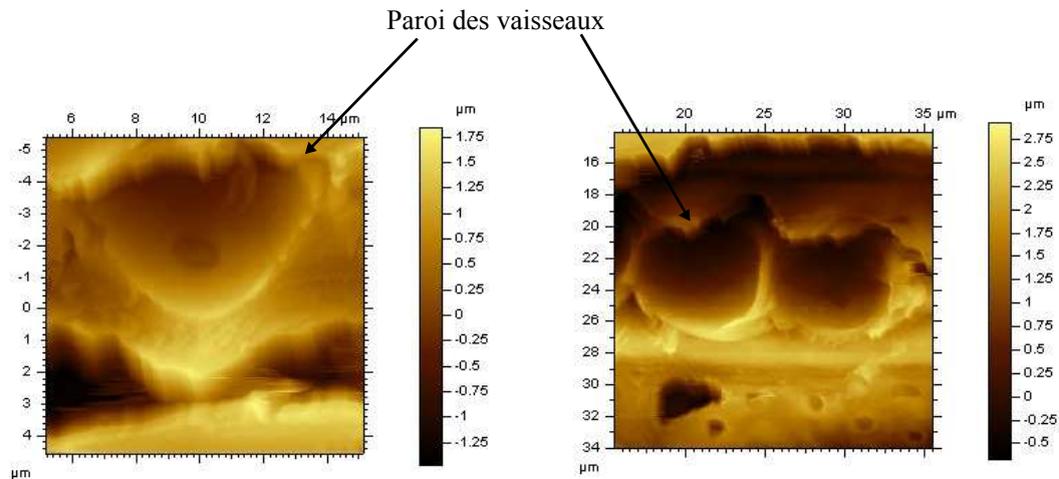


FIGURE 4.8 – Problèmes de coupe lors de la préparation des échantillons. Les ponctuations sont partiellement recouvertes par la paroi des vaisseaux d’une autre cellule de xylème (AFM mode tapping).

La figure 4.9 nous présente les trois types d’images que nous pouvons obtenir en mode tapping : l’image topographique (4.9a), l’image en amplitude (4.9b) et l’image en phase (4.9c).

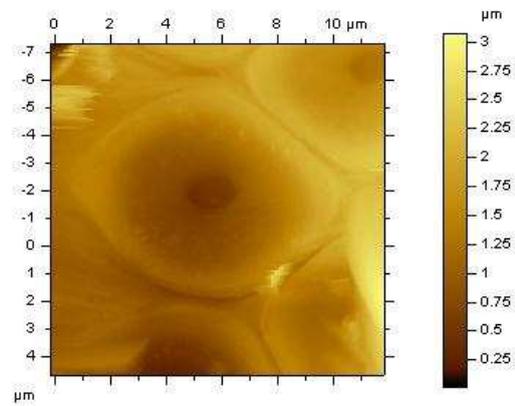
Nous pouvons voir sur ces images que le meilleur contraste est obtenu pour les images en amplitude.

Afin de compléter notre étude sur la structure des ponctuations, nous avons observé des coupes transversales de ponctuations. Ces coupes ont été imagées en microscopie électronique en transmission (MET). Les échantillons utilisés en MET ont été insérés dans une résine blanche de type LR (London Resin Company). La résine polymérise pendant 2 jours à 55°C. Des coupes ultraminces ont été obtenues en utilisant une lame diamant, après immersion dans de l’acétate d’urane pendant 10 min et dans du citrate de plomb pendant 1 min. Les images en MET ont été réalisées sur des sections transversales avec un JEOL JEM 1210 TEM à 80 keV. Les images ont ensuite été analysées avec le logiciel Image J (Rasband 1997-2012). Ces observations ont été réalisées à l’INRA de Clermont-Ferrand.

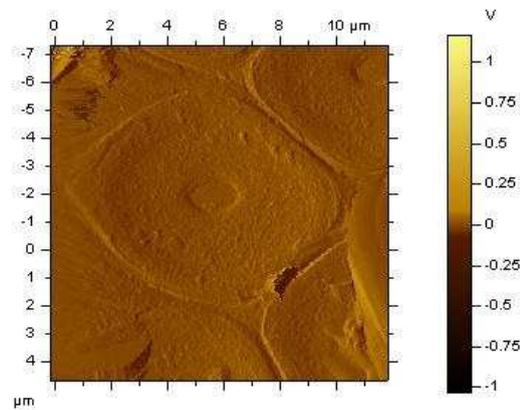
Une comparaison entre les images en AFM et en MET peut être observée sur la figure 4.10.

A partir de ces deux vues complémentaires, nous pouvons diviser les ponctuations en trois zones (Fig. 4.10) :

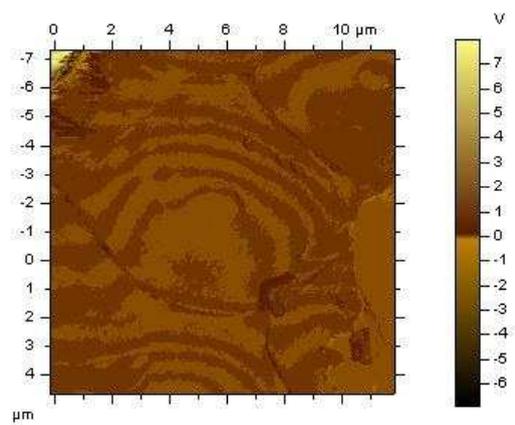
- la paroi primaire (PM) qui correspond à la membrane de la ponctuation ;
- la paroi secondaire proche du centre de la ponctuation (PB1) qui corre-



(a) Topographie



(b) Amplitude



(c) Phase

FIGURE 4.9 – Images AFM en mode tapping d'une ponctuation sèche : image topographique (a) ; image en amplitude (b) ; image en phase (c)

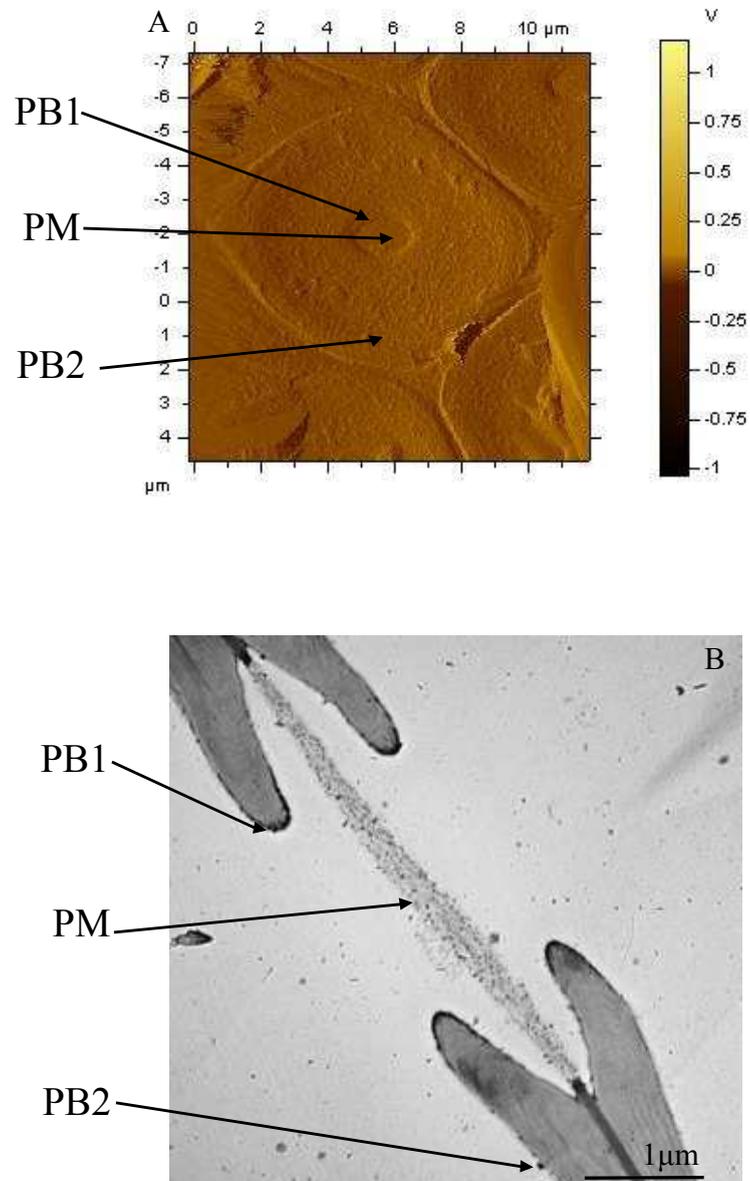


FIGURE 4.10 – Visualisation de division de la ponctuation en trois zones d'étude : la paroi primaire (PM); la paroi secondaire proche du centre de la ponctuation (PB1); la paroi secondaire éloignée du centre de la ponctuation (PB2), sur une vue du dessus de la ponctuation obtenue en AFM (A) et sur une coupe transversale de la ponctuation obtenue en MET (B).

- spond à l'extrémité des mâchoires de la paroi secondaire ;
- la paroi secondaire éloignée du centre de la ponctuation (PB2).

Les images AFM nous permettent aussi de voir la paroi cellulaire reliant deux ponctuations entre elles. La distance entre deux ponctuations voisines peut être mesurée sur des images topographiques (Fig. 4.11).

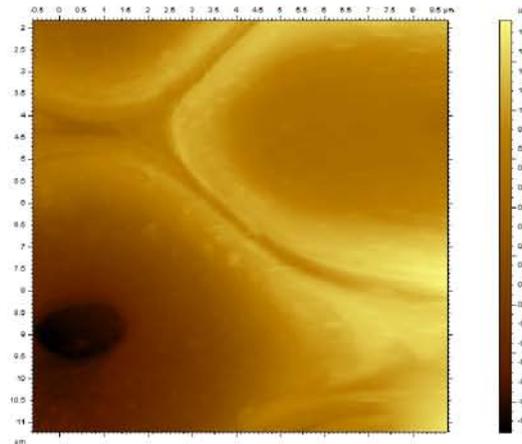


FIGURE 4.11 – Visualisation de la zone séparant deux ponctuations obtenue par AFM en mode tapping.

A partir des images obtenues en microscopie optique, AFM et MET, nous avons pu mesurer les caractéristiques géométriques des ponctuations et des vaisseaux du xylème. Ces caractéristiques sont regroupées dans le tableau 4.1 :

	Valeur
Diamètre des vaisseaux de la branche (AFM+optique)	23,4 μm
Diamètre des ponctuations (AFM)	7 μm
Épaisseur de la membrane primaire (MET)	310 nm
Diamètre d'ouverture de la paroi secondaire (AFM)	1,5 μm
Profondeur de la chambre des ponctuations (AFM)	1,6 μm
Distance entre deux ponctuations voisines (AFM)	0,28 μm

TABLE 4.1 – Caractéristiques géométriques des ponctuations et des vaisseaux du xylème, obtenues à partir d'une analyse microscopique

La profondeur de la chambre des ponctuations correspond à la hauteur h représentée sur la figure 4.12.

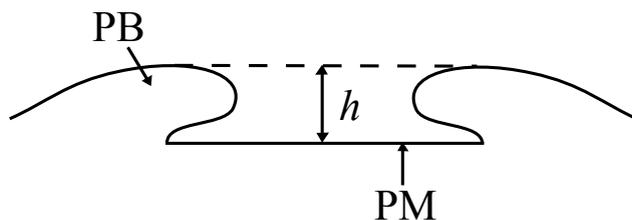


FIGURE 4.12 – Représentation schématique de la profondeur de la chambre de la ponctuation.

Les observations en microscopie ont permis de montrer qu'il n'y a pas de trace de pectine recouvrant les ponctuations. Nous n'observons pas de microfibrilles sur la paroi primaire des ponctuations comme celles des conifères [Pesacreta 2005]. La paroi primaire des ponctuations est homogène, ce qui est en accord avec les données de la littérature sur les membranes des ponctuations des angiospermes [Schmid 1965, Ohtani 1978, Dute 1987, Dute 2004, Jansen 2004, Jansen 2007]. Il nous a été impossible de visualiser les pores de la paroi primaire. L'hypothèse de membrane poreuse n'est donc pas validée par ces observations.

Concernant les caractéristiques géométriques des ponctuations, nous avons pu mesurer leur diamètre à partir des images AFM. Le diamètre mesuré sur des échantillons secs est d'environ $7 \pm 0.5 \mu\text{m}$. Le diamètre obtenu à partir des images en MET est de $8.39 \pm 0.901 \mu\text{m}$. Cette valeur est plus élevée que celle mesurée en AFM mais reste du même ordre de grandeur. Pour la suite de l'étude, nous considérerons que le diamètre est de $7 \mu\text{m}$.

4.4 Nano-mécanique des ponctuations du peuplier

Afin de déterminer le rôle des ponctuations, il est important de connaître leurs propriétés mécaniques. Ces propriétés en complément des caractéristiques géométriques nous permettront de comprendre comment les ponctuations réagissent face à la croissance et la propagation d'une poche de gaz dans un vaisseau de xylème.

Pour cette étude, nous allons proposer une approche nouvelle où nous mesurerons les propriétés nano-mécaniques au moyen d'expérience AFM en mode contact. Des expériences de nano-indentation et de flexion de la membrane primaire seront effectuées sur des échantillons à l'état sec et à l'état saturé en eau, afin de mieux comprendre les effets de la sorption en eau sur

les propriétés mécaniques.

4.4.1 Mesures propriétés mécaniques locales

4.4.1.1 Nanoindentation AFM

La nano-indentation a été utilisée pour la première fois sur du bois par Wimmer et al. (1997) sur le plan transversal de la paroi d'une fibre [Wimmer 1997]. Sur des échantillons macroscopiques de bois, le module d'Young est habituellement mesuré sur le plan tangent avec un indenteur sphérique ou cylindrique [Doyle 1985]. L'AFM permet des mesures de nano-indentation à très petite échelle en utilisant des courbes de force-déplacement comme dans une étude sur les polymères de [Tomasetti 1998]. Une telle technique a été utilisée pour mesurer les modules élastiques des fibres de celluloses en flexion [Cheng 2008]. Un grand nombre de techniques AFM sont en ce moment en développement pour les mesures de propriétés mécaniques [Bhushan 2009]. Cependant peu d'études concernent les propriétés mécaniques des cellules du bois [Clair 2003, Bytebier 2009, Nair 2010].

Eder et al. (2013) ont fait un compte rendu des propriétés du bois qui sont fortement dépendantes des propriétés des fibres c'est-à-dire des parois cellulaires. Cette étude a été menée en faisant de la nano-indentation sur les microfibrilles à l'aide d'un AFM [Eder 2013]. Les modules qu'ils ont pu mesurer sur les parois des vaisseaux sont de l'ordre de 10 GPa.

Ces études de nano-indentation sur les cellules de bois nous prouvent qu'il est possible de calculer des modules d'Young sur ces organes. Nous proposerons dans cette partie, une étude de la nano-mécanique des ponctuations basée sur des expériences réalisées par AFM. Cette approche nouvelle nous permettra de quantifier les modules d'Young des différentes zones du xylème.

Pour réaliser l'étude nano-mécanique, nous allons utiliser l'AFM en mode contact. Ce mode opère en balayant la tête de mesure sur la surface de l'échantillon. Les mouvements dans les trois directions x , y ou z , peuvent être réalisés grâce à des actionneurs électromagnétiques ou par l'intermédiaire de tubes piézoélectriques.

Le mode contact peut être comparé au mode tapping. Il permet de grandes vitesses de balayage. C'est la seule technique AFM qui permette d'atteindre la résolution atomique. Les échantillons rugueux avec de grandes variations en z peuvent être imagés plus facilement en comparaison aux autres modes de fonctionnement. En revanche, les forces latérales sont importantes et peuvent générer des artéfacts sur l'image. La force capillaire peut modifier consid-

également la force normale due à l'interaction pointe échantillon provoquant des erreurs de mesure. La combinaison des forces latérales et d'une force normale élevée peut engendrer une dégradation de la résolution spatiale et un endommagement des échantillons mous tels que les échantillons biologiques ou des polymères ...

Le mode de fonctionnement de l'AFM nous permettant de déterminer les propriétés nano-mécaniques de ponctuations et des parois du xylème est le suivant : après avoir imagé les échantillons en mode contact, nous utilisons le mode spectroscopie pour tracer des courbes de force (courbe correspondant à une mesure de force en fonction du déplacement vertical de la pointe) sur des zones préalablement sélectionnées à l'intérieur et autour de la ponctuation (Fig. 4.10). Afin d'obtenir les données nécessaires pour tracer les courbes de force, la position verticale de la pointe peut être connue à partir de la tension appliquée au "z piezo-transducer". La déflexion du micro-levier peut être déterminée à partir de la tension de sortie V_{A-B} mesurée grâce aux photo-diodes. Les étapes nécessaires pour l'obtention d'une courbe de force sont présentées sur la figure 4.13.

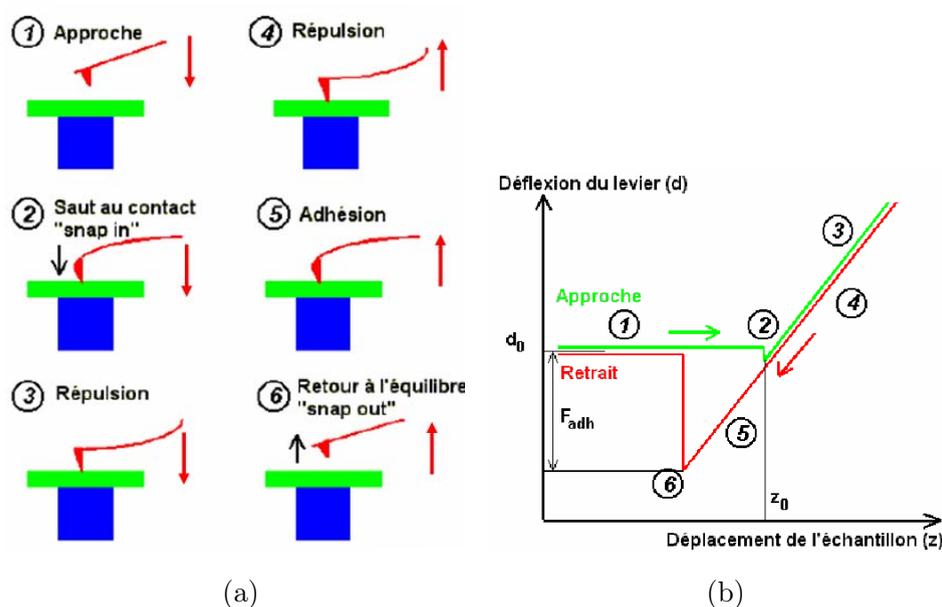


FIGURE 4.13 – Mode spectroscopie en AFM utilisé pour tracer des courbes de forces : (a) interaction de la pointe avec la surface durant l'établissement d'une courbe de force ; (b) exemple arbitraire de courbe de force [Arinero 2005].

Durant l'approche de la pointe (Fig. 4.13a1), la pointe n'interagit pas encore avec la surface et la déflexion du levier ne varie pas (elle est en principe

nulle). Durant l'étape 2 (Fig. 4.13a2), apparaît un brusque saut de la pointe au contact provoquant une légère déflexion du levier vers le bas. Ce phénomène est lié à une instabilité du levier lorsque sa constante de raideur devient plus faible que le gradient de forces attractives. Ces forces sont des forces d'adhésion et/ou de capillarité. Ce point appelé "snap-in" ou "pull-on" est pris par convention comme point où la distance pointe-surface est égale à zéro. Dans la partie 3 (Fig. 4.13a3), le scanner continue sa progression vers le bas et les forces répulsives provoquent une déflexion vers le haut de plus en plus importante du levier. A l'étape 4 (Fig. 4.13a4), le scanner remonte et la déflexion du levier diminue progressivement. Suite à l'action des forces d'adhésion et éventuellement de capillarité, la pointe reste en contact avec la surface et une déflexion du levier vers le bas est observée (Fig. 4.13a5). Enfin lorsque la constante de raideur du levier devient supérieure au gradient de force attractive une seconde instabilité apparaît et le levier revient brusquement à sa position d'équilibre (Fig. 4.13a6). Cette seconde instabilité est généralement appelée "snap-out" ou "pull-off" et la force minimale mesurée en ce point est conventionnellement appelée la force d'adhésion. Une courbe de force typique est donnée figure 4.13b.

Les pointes utilisées pour ces expériences sont des pointes "scanning probe MESP Veeco (antimony (n) doped Si)" (Fig. 4.14) dont les caractéristiques sont :

- rayon de la pointe $R = 2 \text{ nm}$;
- épaisseur du cantilever $t = 2,5 \text{ }\mu\text{m}$;
- longueur du cantilever $l = 200 \text{ }\mu\text{m}$;
- largeur du cantilever $w = 23 - 33 \text{ }\mu\text{m}$;
- raideur du cantilever $k = 1 - 5 \text{ N.m}^{-1}$;
- fréquence de résonance du cantilever $f_0 = 60 \text{ kHz}$.

Dans le but de valider le choix des pointes utilisées, nous avons calculé la raideur de contact k_N :

$$k_N = 2E^*a = (6E^{*2}RF)^{1/3} = 2,5 \text{ N.m}^{-1} \quad (4.10)$$

La raideur de contact est du même ordre de grandeur que celle des pointes utilisées.

Lors de l'utilisation du mode contact, la raideur du cantilever et le rayon de la pointe sont les paramètres les plus importants permettant de quantifier les propriétés locales des échantillons. Les valeurs de ces paramètres doivent être mesurées et comparées à celles données par les constructeurs. Dans un premier temps, il faut déterminer le facteur de calibration afin de tracer les courbes force-distance ; cette évaluation a été faite en mode contact sur un

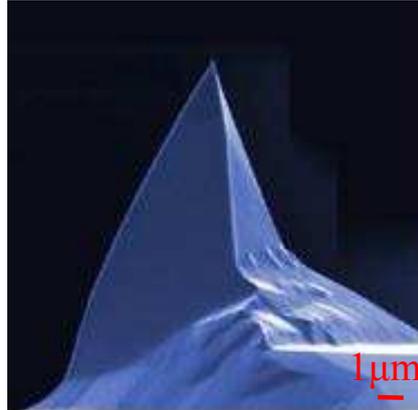


FIGURE 4.14 – Pointe contact “scanning probe MESP Veeco (antimony (n) doped Si)”

wafer de silicium considéré comme infiniment rigide. Nous avons trouvé un facteur de calibration de $1/\chi = 2.89 \pm 0.14 \cdot 10^8 \text{ V.m}^{-1}$ (Fig. 4.15). Dans un second temps, la raideur du cantilever a été mesurée par la méthode dite de Thermal K [Capella 1999], implémentée dans le logiciel PicoView. Pour nos expériences, cette raideur est $k = 1,35 \pm 0,085 \text{ N.m}^{-1}$.

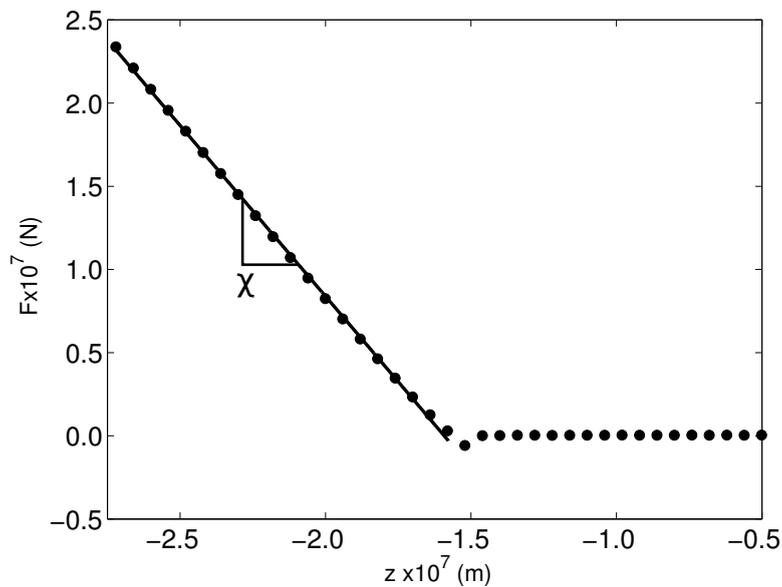


FIGURE 4.15 – Courbe de force sur le wafer de silicium (●) réalisée en AFM

A l'air, une interface fluide est systématiquement créée par une condensation capillaire de vapeur sous-saturée entre une sphère de rayon R et un plan (Fig. 4.16).

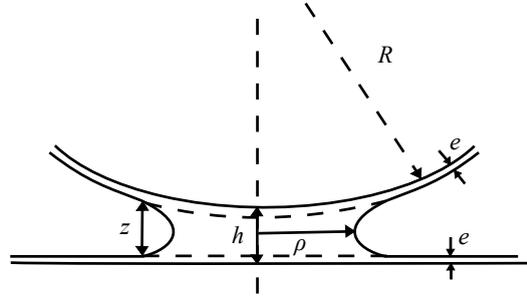


FIGURE 4.16 – Schéma représentant le pont capillaire entre une sphère et une surface plane. R est le rayon de la sphère. $z/2$ et ρ sont les deux principaux rayons de courbure du ménisque ; e est l'épaisseur du film sec.

La force capillaire entre deux surfaces due à un fin pont liquide (Fig. 4.16) peut être calculée dans le cadre de la théorie macroscopique de la capillarité en respectant les hypothèses énoncées précédemment [Fisher 1981] :

$$\frac{F_{cap}}{R} = 4\pi\gamma \left(1 - \frac{h - 2e}{z} \right) \quad (4.11)$$

où :

- z la hauteur du ménisque ;
- γ la tension de surface de l'eau d'environ 70 mJ.m^{-2} pour nos conditions expérimentales.

Dans le cas d'une pointe sphérique qui vient toucher la surface, nous pouvons écrire que $h = 2e$. Finalement, le rayon de la pointe peut être estimé connaissant la force capillaire F_{cap} [Crassous 1993] par :

$$R \simeq \frac{F_{cap}}{4\pi\gamma} \quad (4.12)$$

Dans nos expériences, nous mesurons un rayon de la pointe de $R = 1,3 \pm 0,1 \text{ nm}$ (Fig. 4.15). Ce rayon de pointe est du même ordre de grandeur que celui donné par le constructeur. Il est évident que le rayon de la pointe s'agrandit par usure lors de son utilisation surtout en mode contact. Une mesure de ce rayon sera donc effectuée avant et après chaque utilisation de la pointe, ce qui permettra de prendre en compte l'évolution de son rayon lors des différentes expériences réalisées avec cette pointe. L'évolution du rayon de

la pointe sera prise en compte dans l'étude de nano-mécanique et plus particulièrement pour les calculs de module.

Connaissant les caractéristiques de la pointe et du micro-levier, il est possible de réaliser des courbes de forces quantitatives sur nos échantillons.

Afin d'évaluer la précision de nos mesures, chaque expérience a été réalisée au moins 10 fois par ponctuation et pour 10 ponctuations différentes sur 2 échantillons différents. Nous avons réalisé deux séries de mesures, l'une sur des échantillons secs et l'autre sur des échantillons saturés en eau.

Pour les expériences AFM, tous les échantillons ont la même taille : ce sont des carrés de 10 mm de côté et ayant une épaisseur de 60 μm . Ces carrés ont été obtenus par coupe à partir de branches latérales à l'aide d'un microtome à glissière et d'une lame de rasoir. Les échantillons sont ensuite fixés sur un wafer de silicium avant d'être introduits dans la section d'essais de l'AFM.

Pour les mesures sur les échantillons secs, les échantillons sont coupés sur des branches qui ont été conservées dans de l'eau distillée. Les échantillons découpés sont saturés en eau. Ils sont alors séchés pendant quinze jours à température ambiante, ce qui nous permet d'assurer l'évaporation de l'eau présente dans les échantillons à la solubilité près.

Pour les mesures sur les échantillons saturés en eau, les branches sont coupées au microtome à glissière directement sur des branches remplies de sève et ont été immergées immédiatement après la coupe dans l'eau distillée. Les échantillons sont conservés quinze jours dans l'eau distillée afin d'être réhydratés. Le stockage dans l'eau distillée ne dure pas plus d'un mois afin d'éviter la formation d'une couche de substances celluloseuses pouvant modifier la surface des échantillons. Avant d'effectuer les mesures AFM, une petite goutte d'eau distillée est placée sur l'échantillon et la courbe de force est mesurée en plongeant le micro-levier dans la goutte d'eau.

Avant toute mesure, nous calculons le rayon de la pointe et nous mesurons la raideur de levier k .

Les paramètres du système utilisés pour tracer les courbes de force sont les suivants :

- durée de l'expérience : 40 s ;
- nombre de points : 10000 ;
- hauteur initiale de la pointe : 0,5 μm ;
- hauteur finale de la pointe : -0,2 μm ;
- temps de latence entre deux expériences : 2 s.

4.4.2 Expériences nano-mécaniques d'échantillons secs

Nous allons présenter les mesures de module d'Young effectuées sur la paroi des vaisseaux et sur les ponctuations en milieu sec.

4.4.2.1 Contact de Hertz [Hertz 1882]

Contact entre deux sphères

Les mesures que nous avons effectuées en AFM pour mesurer les propriétés nano-mécaniques sont différentes de la nano-indentation classique. Les méthodes utilisées sont basées sur la mesure de l'interaction entre la pointe de l'AFM et la surface de l'échantillon et non sur la mesure d'empreinte dans le cas de la nano-indentation conventionnelle.

La première analyse de la distribution des contraintes à l'intérieur de la zone de contact entre deux solides élastiques a été donnée par Hertz en 1882 [Hertz 1882]. La théorie du contact de Hertz traite du contact entre deux corps élastiques sphériques (Fig. 4.17). Deux sphères sont mises en contact à l'état initial et sont pressées l'une contre l'autre par application d'une force normale F_N .

Les équations qui régissent cette théorie sont valables dans les conditions suivantes : l'aire de contact est un disque ; chaque corps est considéré comme un solide élastique semi-infini ; les dimensions de la zone de contact sont faibles par rapport à celles des deux corps et par rapport aux rayons de courbures de leurs surfaces ; les contraintes sont suffisamment faibles pour que les lois de l'élasticité linéaire soient applicables ; la surface de contact est supposée lisse : ainsi, la pression transmise à travers la zone de contact est une pression normale.

La théorie de Hertz permet d'exprimer les grandeurs caractéristiques du contact (a le rayon de la surface d'indentation ; p_0 la pression maximale dans la zone de contact et δ l'indentation) en fonction des propriétés des solides et de leur géométrie (E le module d'Young ; ν le coefficient de Poisson ; R le rayon de courbure des sphères et F_N la force normale appliquée aux deux solides).

Considérons deux sphères de rayons de courbure respectifs R_1 et R_2 . Les propriétés mécaniques de ces deux sphères (module d'Young, coefficient de Poisson) sont (E_1, ν_1) et (E_2, ν_2) .

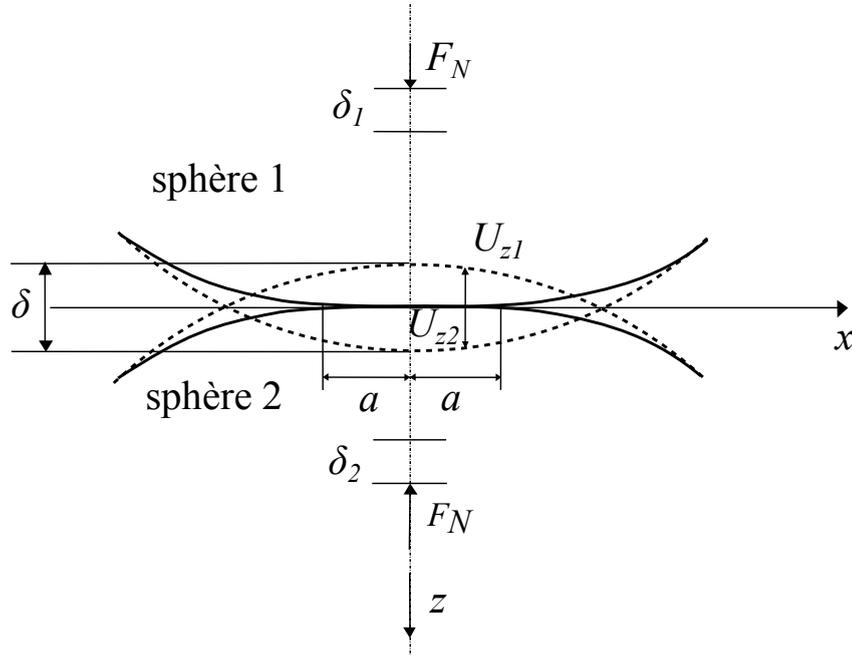


FIGURE 4.17 – Schéma du contact de Hertz entre deux corps élastiques sphériques

A partir de l'équation d'une sphère de rayon R dans un repère à trois dimensions dont l'origine est son centre et d'un développement limité de z en considérant que x et y sont petits devant R et donc que $x^2 + y^2/R^2 \ll 1$, la coordonnée axiale z s'exprime de la façon suivante :

$$z \simeq -\frac{1}{2R} (x^2 + y^2). \quad (4.13)$$

Nous considérons dans cette équation que l'origine du repère est maintenant le centre de la zone de contact.

La relation 4.13 est alors utilisée afin de déterminer les coordonnées de deux sphères de rayon respectif R_1 et R_2 :

$$\begin{cases} z_1 &= \frac{1}{2R_1} (x_1^2 + y_1^2) \\ z_2 &= \frac{1}{2R_2} (x_2^2 + y_2^2) \end{cases} \quad (4.14)$$

Soit h la hauteur de séparation entre les deux sphères en un point de coordonnées (x, y) . h est donnée par :

$$h = z_1 - z_2 = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \cdot (x^2 + y^2) \quad (4.15)$$

Dans le modèle de Hertz, il est supposé que la distribution de pression à l'intérieur de la zone de contact est de la forme :

$$p(r) = p_0 \left(1 - \frac{r^2}{a^2}\right)^n, \quad (4.16)$$

où p_0 est la pression maximale ressentie au centre de la zone de contact et a est le rayon de la zone de contact.

Le déplacement total $U_z(r)$ peut être calculé de la façon suivante :

$$U_z(r) = \frac{1 - \nu^2}{\pi E} \int p(r, \theta) dr d\theta = \frac{1 - \nu^2}{E} \frac{\pi p_0}{4a} (2a^2 - r^2). \quad (4.17)$$

Définissons E^* le module d'Young réduit du système constitué par les deux sphères :

$$\frac{1}{E^*} = \frac{1 - \nu_1^2}{E_1} + \frac{1 - \nu_2^2}{E_2}. \quad (4.18)$$

p_0 peut s'exprimer en fonction de la force normale F_N appliquée sur les sphères et du rayon de contact a :

$$F_N = \frac{2}{3} \pi p_0 a. \quad (4.19)$$

Le rayon de la zone de contact a s'écrit alors :

$$a = \left(\frac{3RF_N}{4E^*} \right)^{1/3}. \quad (4.20)$$

p_0 peut être calculée à partir de la relation 4.19 :

$$p_0 = \left(\frac{6F_N E^{*2}}{\pi^3 R^2} \right)^{1/3}. \quad (4.21)$$

Enfin, nous pouvons également calculer la profondeur de pénétration δ à partir de l'équation 4.22 :

$$\delta = \frac{a^2}{R} = \left(\frac{9F_N^2}{16RE^{*2}} \right)^{1/3}. \quad (4.22)$$

La théorie du contact de Hertz ne s'applique que pour des corps élastiques et pour des charges appliquées faibles. En effet, il est important que les dimensions de la zone de contact restent petites devant le rayon des deux sphères.

Contact sphère-plan

Plaçons nous dans le cas d'un poinçon sphérique 4.18, caractéristique du contact d'une pointe AFM sur une surface plane. Sneddon a montré que le rayon de la zone de contact a s'écrit :

$$a = \sqrt{2R\delta - \delta^2}, \quad (4.23)$$

et la profondeur de pénétration δ :

$$\delta = \left(\frac{3F_N}{4\sqrt{RE^*}} \right)^{2/3}. \quad (4.24)$$

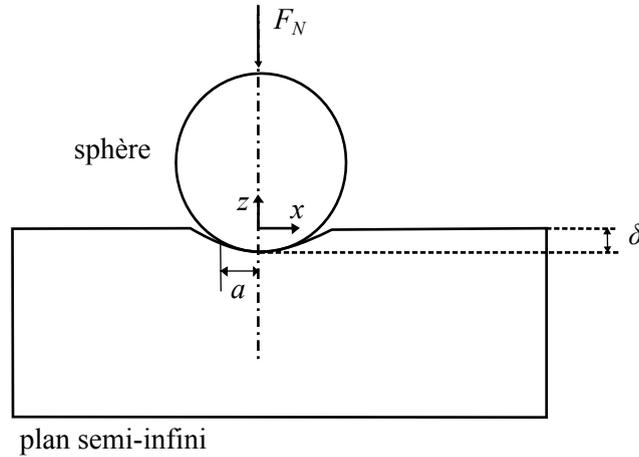


FIGURE 4.18 – Schéma du contact sphère-plan selon Sneddon

Compte tenu de la rugosité des échantillons, les essais de nano-indentation peuvent être analysés à partir du modèle de Hertz (contact sphère-plan).

Les propriétés mécaniques locales des ponctuations sont calculées à partir des courbes de forces. D'après l'équation 4.22, lorsque nous sommes dans le cas d'une indentation Hertzienne, il est possible de relier la tension ($V_{A-B} = k\chi F_N$) à l'indentation (δ) par une loi de puissance :

$$V_{A-B} = \frac{4}{3} \frac{R^{1/2} E^*}{k\chi} \delta^{3/2}. \quad (4.25)$$

Nous considérons que le module d'Young de la pointe est très élevé ($E_1 = 168 \cdot 10^9$ Pa [Jaccodine 1963]) et nous négligeons l'effet du coefficient de Poisson. Aussi le module d'indentation, E^* , représente le module d'Young caractéristique de l'échantillon que nous noterons E dans la suite de l'étude.

Le wafer de silicium a un module d'Young compris entre 130 et 170 GPa, ce

qui est très élevé comparé à nos surfaces d'étude [Boyd 2012]. Lorsque nous faisons des courbes de force sur des wafers de silicium, nous remarquons que la force varie linéairement en fonction du déplacement z de la pointe. Nous considérons donc qu'il n'y a pas d'indentation sur cette surface. A partir des courbes de forces effectuées sur les échantillons d'étude, nous pouvons en sortir l'indentation, δ , qui est obtenue en soustrayant à force constante le déplacement de la pointe sur l'échantillon d'étude avec le déplacement de la pointe sur le wafer de silicium. Donc par cette opération, nous obtenons uniquement la contribution de l'indentation. Le module, E , peut être calculé à partir de la pente de la courbe expérimentale $V_{A-B} - \delta^{3/2}$ (eq. 4.25).

Nous avons fait des essais de calibration sur des échantillons tests de polyméthacrylate de méthyle (PMMA) dont le module d'Young est proche de celui du bois ($E = 2.1$ GPa [Amitay-Sadovsky 1998]). Les expériences d'indentation sur cet échantillon ont permis de montrer que le z piezo-transducer devait être calibré. Les courbes de force sur le PMMA et le wafer de silicium sont présentées sur la figure 4.19a.

La courbe d'indentation $V_{A-B} - \delta^{3/2}$ sur le PMMA est présentée sur la figure 4.19b.

A partir de ces courbes, nous trouvons un module d'Young du PMMA de 0,13 GPa ce qui est beaucoup plus faible que la valeur de la littérature pour le même PMMA que celui utilisé pour notre étude. Nous avons donc introduit un facteur de calibration du z piezo-transducer qui est de $16,5 \pm 0,8$.

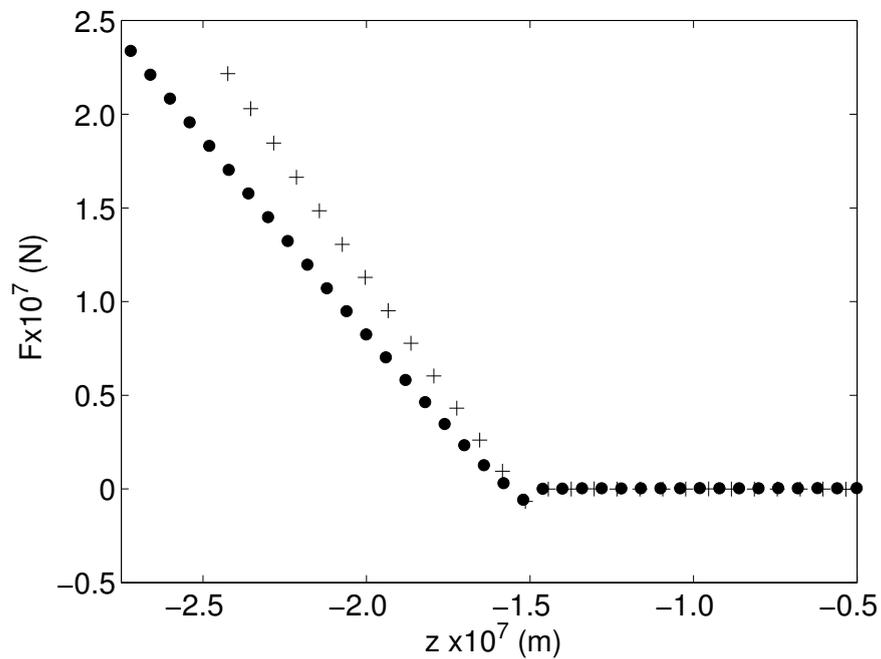
Validité du modèle

Nous pouvons nous questionner quant à la validité du modèle de Hertz pour nos expériences de nano-indentation.

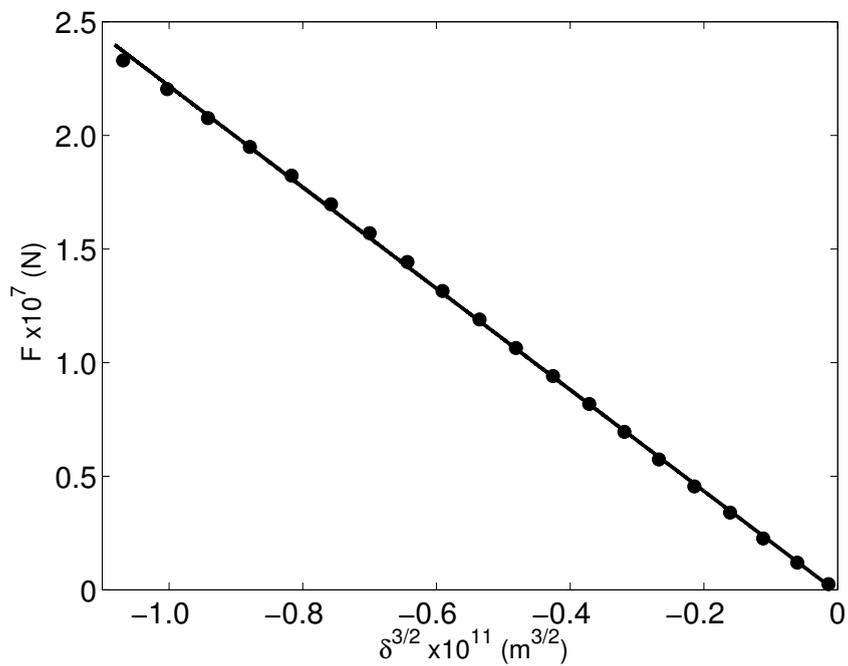
Il existe de nombreux modèles pouvant décrire le comportement mécanique d'un solide. Ces autres modèles prennent en compte la force d'adhésion F_{ad} de la pointe de rayon R sur l'échantillon. Cette force d'adhésion est calculée à partir de la force capillaire par [Eastman 1996] :

$$F_{ad} = 4\pi\gamma R, \quad (4.26)$$

γ étant la tension superficielle de l'eau. La force d'adhésion dans la configuration de notre étude est de l'ordre d'un nN.



(a)



(b)

FIGURE 4.19 – (a) Courbe de force sur le wafer de silicium (+) et sur le PMMA (•) mesurée par AFM; (b) Courbe d'indentation du PMMA : points expérimentaux (•) et régression linéaire (–) mesurée par AFM

Le modèle de Derjaguin, Muller et Toporov (modèle DMT) [Derjaguin 1975] considère que les forces d'adhésion agissent à la fois à l'extérieur et à l'intérieur de la zone de contact.

Le modèle DMT est valable principalement dans les trois cas suivants : le contact se fait avec un matériau de module élevé par rapport à celui de la sphère ; l'adhésion est faible ; le rayon de courbure de la sphère est petit.

Les solutions du modèle DMT sont :

$$a = \left[\frac{3R(F_{\text{ad}} + F_{\text{N}})}{4E^*} \right]^{1/3}, \quad (4.27a)$$

$$\delta = \frac{a^2}{R} = \left[\frac{9(F_{\text{ad}} + F_{\text{N}})^2}{16RE^{*2}} \right]^{1/3}. \quad (4.27b)$$

Le modèle de Johnson, Kendall et Roberts (modèle JKR) est un modèle mécanique qui permet de définir le contact adhésif entre deux corps élastiques [Johnson 1971]. Ce modèle tient compte des énergies thermodynamiques des solides par la présence de forces d'adhésion additionnelles à l'extérieur de la zone de contact. Ainsi, la pression totale ressentie par un matériau élastique en contact avec une bille soumise à une force constante est supérieure à celle calculée dans le cadre du modèle de Hertz.

Les solutions du modèle JKR sont :

$$a = \left[\frac{3R}{4E^*} \left(\sqrt{F_{\text{ad}}} + \sqrt{F_{\text{ad}} + F_{\text{N}}} \right)^2 \right]^{1/3}, \quad (4.28a)$$

$$\delta = \frac{a^2}{R} - \sqrt{\frac{4aF_{\text{ad}}}{3RE^*}}. \quad (4.28b)$$

Les modèles JKR et DMT que nous venons d'étudier correspondent à deux cas limites de contact avec adhésion. Un modèle intermédiaire de Maugis-Dugdale présente une généralisation des modèles JKR et DMT. Il est basé sur l'utilisation d'un potentiel de Dugdale [Tabor 1977]. Ce dernier suppose que la contrainte d'interaction σ_0 est uniforme tant que la distance de séparation des surfaces n'excède pas h_0 , la distance maximale d'interaction.

En se basant sur les équations des trois modèles (Hertz, JKR et DMT), nous pouvons tracer l'évolution de la force normale F_{N} en fonction de $\delta^{3/2}$ (Fig. 4.20).

Les pentes de ces trois courbes sont très proches. Le calcul du module d'Young étant basé sur ces pentes, les valeurs des modules calculées pour chacun des modèles seront identiques aux incertitudes expérimentales près. De

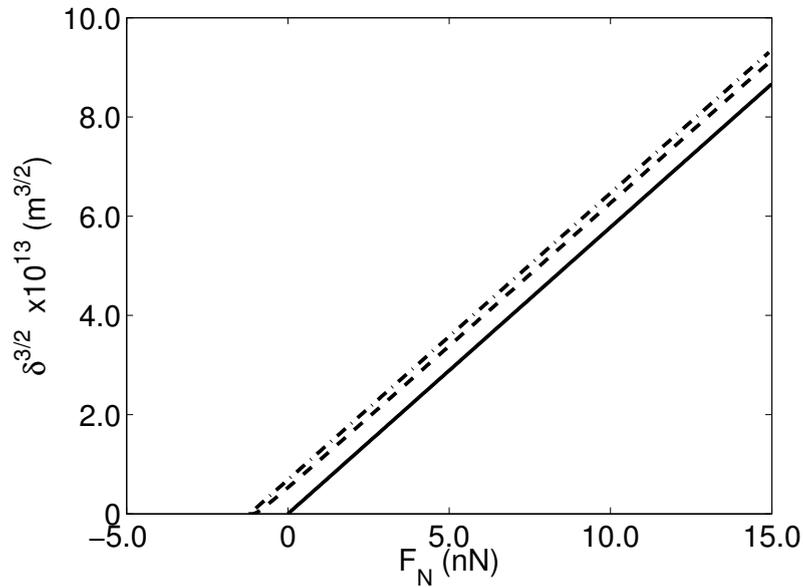


FIGURE 4.20 – Evolution de la force normale F_N en fonction de $\delta^{3/2}$ pour le modèle de Hertz (—), JKR (---) et DMT (•—)

plus, nous pouvons observer sur la courbe d'indentation de la figure 4.19b ainsi que sur la courbe de retrait, qu'à force nulle, l'indentation est nulle. Ce résultat signifie que la force d'adhésion peut être négligée ($F_{\text{ad}} \approx 0$). Ainsi, dans nos expériences, le modèle de Hertz semble pouvoir être utilisé pour calculer le module d'Young lors de nos expériences de nano-indentation sur des échantillons secs de PMMA et de bois.

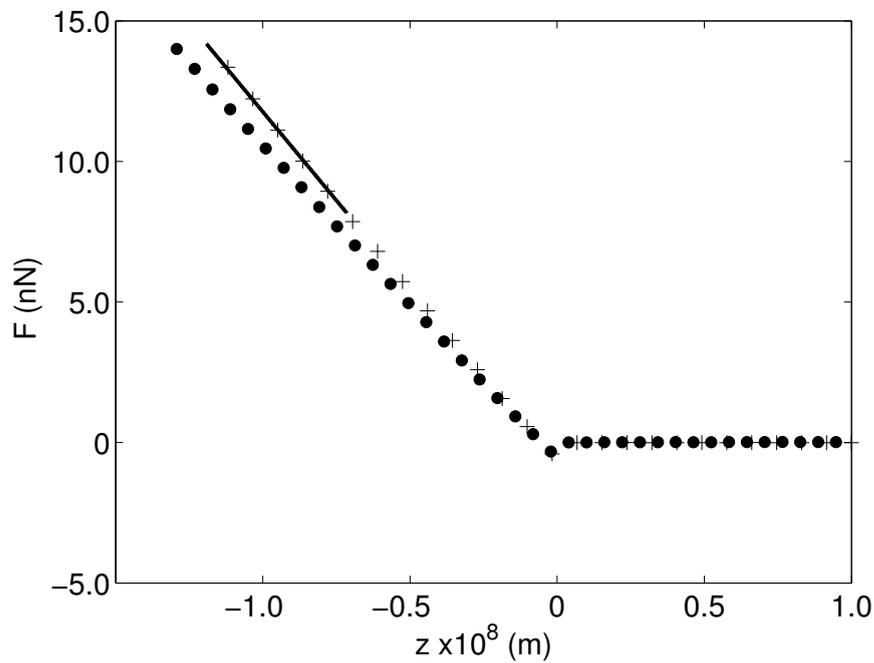
4.4.2.2 Module d'Young des parois des vaisseaux

Nous avons effectué des expériences de nano-indentation sur les parois sèches des vaisseaux du xylème.

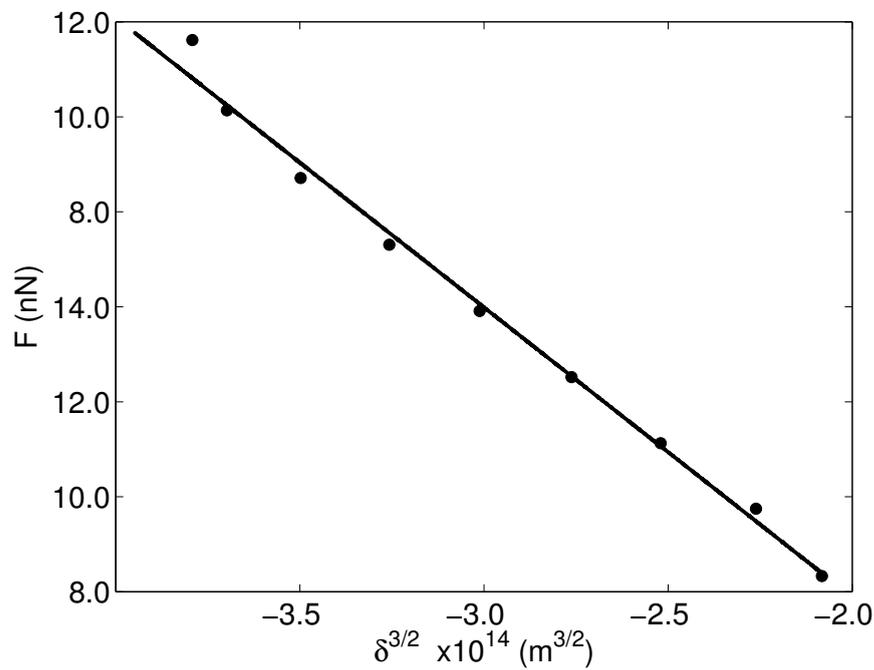
Les courbes de force sur la paroi du vaisseau et sur le wafer de silicium sont présentées sur la figure 4.21a.

La courbe d'indentation $V_{A-B} - \delta^{3/2}$ caractéristique de la paroi du vaisseau est présentée sur la figure 4.21b.

Nous avons vérifié que sur la courbe d'indentation de la paroi des vaisseaux, l'indentation est bien nulle pour une force nulle ($F_{\text{ad}} \approx 0$). Nous avons aussi vérifié que la force est bien proportionnelle à l'indentation à la puissance $3/2$.



(a)



(b)

FIGURE 4.21 – (a) Courbe de force sur le wafer de silicium (+) et sur la paroi d'un vaisseau (•) mesurée par AFM; (b) Courbe d'indentation de la paroi d'un vaisseau : points expérimentaux (•) et régression linéaire (-) mesurée par AFM

A partir de la pente de la figure 4.21b, nous pouvons calculer le module d'indentation de la paroi des vaisseaux : $E = 7,9 \pm 2,4$ GPa. Cette valeur a été obtenue en moyennant les résultats obtenus sur l'ensemble des expériences réalisées soit environ 50 mesures et en tenant compte de l'erreur commise par l'AFM.

Il est possible de comparer ce résultat aux valeurs trouvées dans la littérature. Des mesures de modules d'indentation sur les fibres du bois ont été faites en utilisant des méthodes de nano-indentation par Eder et al. [Eder 2013]. Dans des conditions voisines à celles de notre étude, ces auteurs ont obtenu une valeur de module d'indentation proche de 8 GPa. Ce résultat est en accord avec les mesures que nous avons faites. Le module que nous avons calculé correspond à un module d'Young radial de la paroi des vaisseaux.

4.4.2.3 Flexion de la membrane

Dans cette partie, nous souhaitons déterminer le module d'Young de la paroi primaire d'une ponctuation sèche. Nous avons, dans un premier temps, effectué des expériences de nano-indentation. Le critère d'utilisation du modèle d'indentation de Hertz n'est pas validé dans ces mesures. En effet, lorsque nous avons calculé l'indentation, nous avons remarqué qu'elle ne variait pas en fonction de l'indentation à la puissance 3/2.

La courbe de force sur la membrane des ponctuations est présentée sur la figure 4.22a.

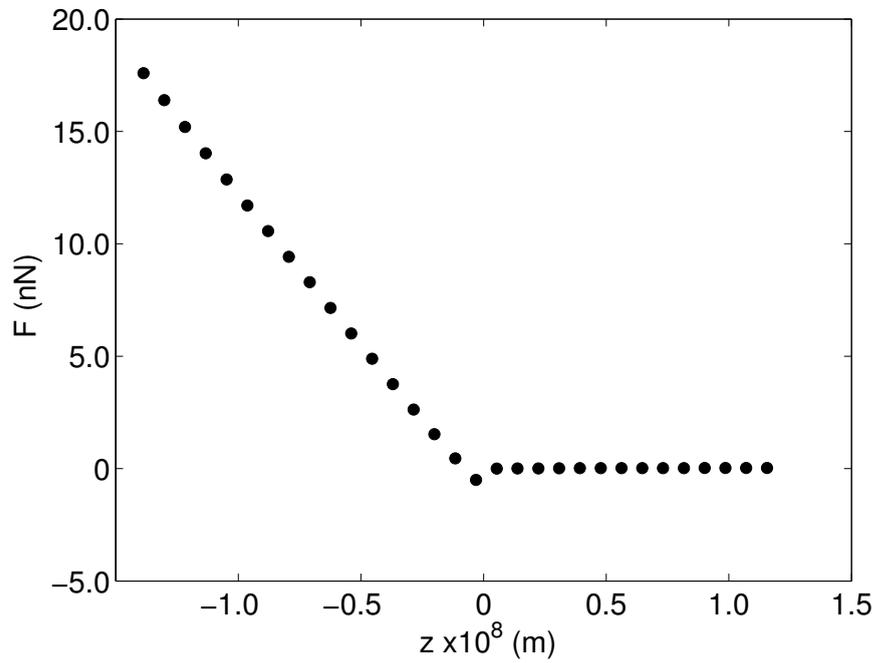
L'évolution de la force en fonction du déplacement de la pointe est linéaire (Fig. 4.22b). Ce comportement est caractéristique d'une expérience de flexion de membrane.

La théorie de la flexion d'une plaque mince permet de calculer la déflexion en fonction de la force appliquée. Pour une plaque circulaire encastrée et chargée en son centre par une force locale, la déflexion z de ce point suit la loi suivante [Williams 1980] :

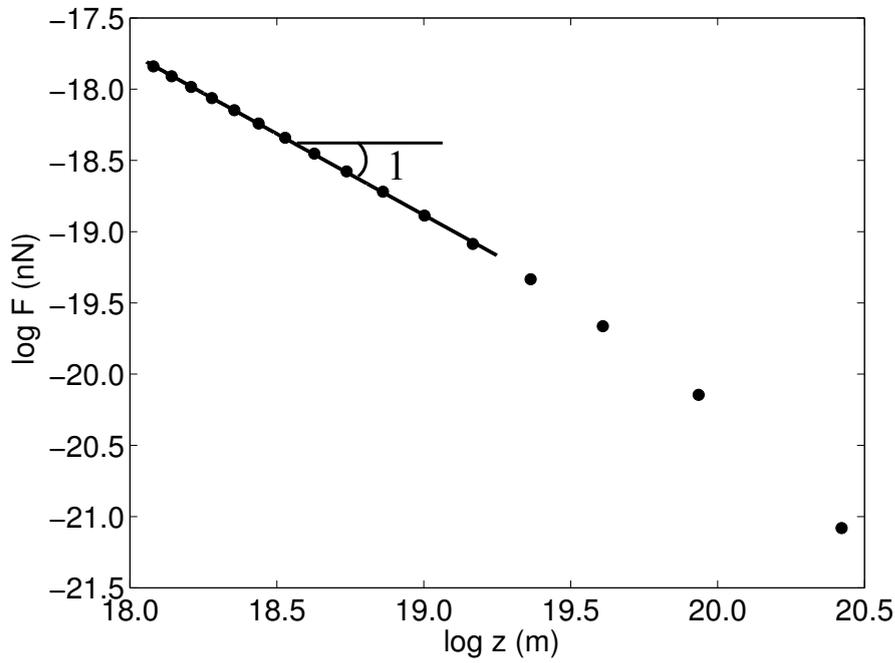
$$z = \frac{FL^2}{4Ee^3} \left[\frac{3(2-\nu)(1-\nu^2)}{\pi} \right], \quad (4.29)$$

où :

- F la force au centre de la plaque,
- L le diamètre de la plaque,
- e l'épaisseur de la plaque,
- ν son coefficient de Poisson.



(a)



(b)

FIGURE 4.22 – (a) Courbe de force sur la membrane d'une ponctuation dans un état sec (●) mesurée par AFM; (b) Courbe de force en log-log de la membrane d'une ponctuation (●) et sa régression linéaire (–)

Nous pouvons noter que le déplacement de la pointe est bien proportionnel à la force de déflexion. A partir de la pente s de la courbe de force, le module d'Young E de la membrane primaire peut être calculé :

$$E = \frac{\chi L^2}{4se^3} \left[\frac{3(2-\nu)(1-\nu^2)}{\pi} \right]. \quad (4.30)$$

L'équation 4.30 peut donc être utilisée pour calculer le module d'Young de flexion de la membrane primaire sèche : $E = 0,36 \pm 0,02$ GPa. Cette valeur a été obtenue en moyennant les résultats obtenus sur l'ensemble des expériences réalisées soit 10 essais sur 10 ponctuations différentes sur deux échantillons différents et en tenant compte des incertitudes expérimentales.

La comparaison des modules des parois des vaisseaux et des parois primaires laisse supposer qu'à pression constante, la paroi primaire sera soumise à de très fortes déformations.

4.4.3 Expérience de nano-mécanique des échantillons saturés en eau

Des expériences de nano-indentation sur les différentes parties des ponctuations PM, PB1 et PB2 ont été réalisées pour des échantillons saturés en eau. Une courbe force-distance type est représentée sur la figure 4.23.

Pour l'ensemble de nos mesures, nous observons que les courbes d'approche et de retrait sont superposées. Il n'y a pas de mécanisme d'hystérésis observé lorsque la pointe s'éloigne de la surface. Ceci nous permet de valider le comportement de solide face à une contrainte.

Ces courbes ne sont pas linéaires contrairement aux expériences que nous avons menées en milieu sec. Elles sont caractéristiques de solides visco-élastiques. Pour modéliser le comportement de ces matériaux, nous allons utiliser un modèle rhéologique simple, nommé modèle de Zener ou de Jeffreys solide. Les trois paramètres de ce modèle sont deux modules d'Young E_1 et E_2 et une viscosité η . Le schéma en analogie mécanique de ce modèle est représentée sur la figure 4.24.

L'équation différentielle reliant la contrainte σ à la déformation $\varepsilon = z/R$ prend la forme :

$$\dot{\sigma} + \frac{E_2}{\eta} \sigma = (E_1 + E_2) \dot{\varepsilon} + \frac{E_2 E_1}{\eta} \varepsilon, \quad (4.31)$$

où $\dot{\varepsilon}$ est la vitesse de déformation. Elle correspond, dans notre cas, à la vitesse de déplacement de la pointe normalisée par le rayon de la pointe R . Dans nos expériences, nous trouvons que $\dot{\varepsilon} = 1.17 \pm 0.06$ s⁻¹.

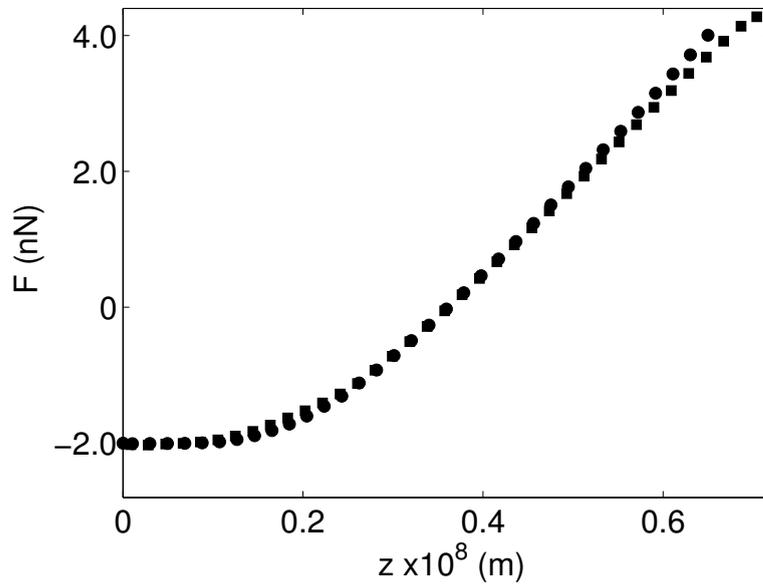


FIGURE 4.23 – Courbe de force sur la membrane d'une ponctuation dans un état saturé en eau en approche (●) et en retrait (■) mesurée en AFM

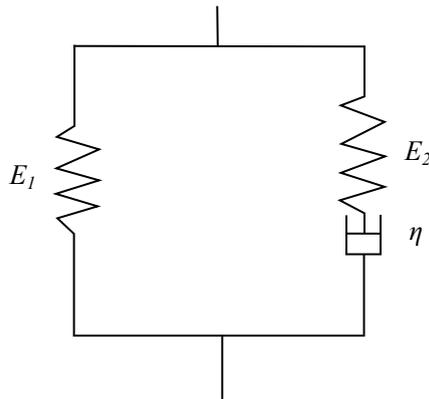


FIGURE 4.24 – Représentation schématique du modèle de Zener utilisé pour représenter le comportement visco-élastique des ponctuations saturées en eau.

En intégrant cette équation différentielle (4.31), nous obtenons la relation entre la contrainte et le déplacement normalisé $\sigma(\varepsilon)$:

$$\sigma = E_1\varepsilon + \eta\dot{\varepsilon} \left[1 - \exp\left(-\frac{\varepsilon}{\tau\dot{\varepsilon}}\right) \right], \quad (4.32)$$

où $\tau = \eta/E_2$ est le temps de relaxation.

L'étude en fréquence du modèle de Zener montre que E_1 correspond au module d'Young en basse fréquence et que $E_1 + E_2$ correspond au module à haute fréquence. En tenant compte de nos conditions opératoires, le module E_1 peut être comparé au module d'Young mesuré à sec en nanoindentation.

Afin de trouver les trois paramètres du modèle de Zener, nous avons utilisé la méthode des moindres carrés implémentée dans le logiciel Matlab®. Les résultats de la régression peuvent être visualisés sur la figure 4.25.

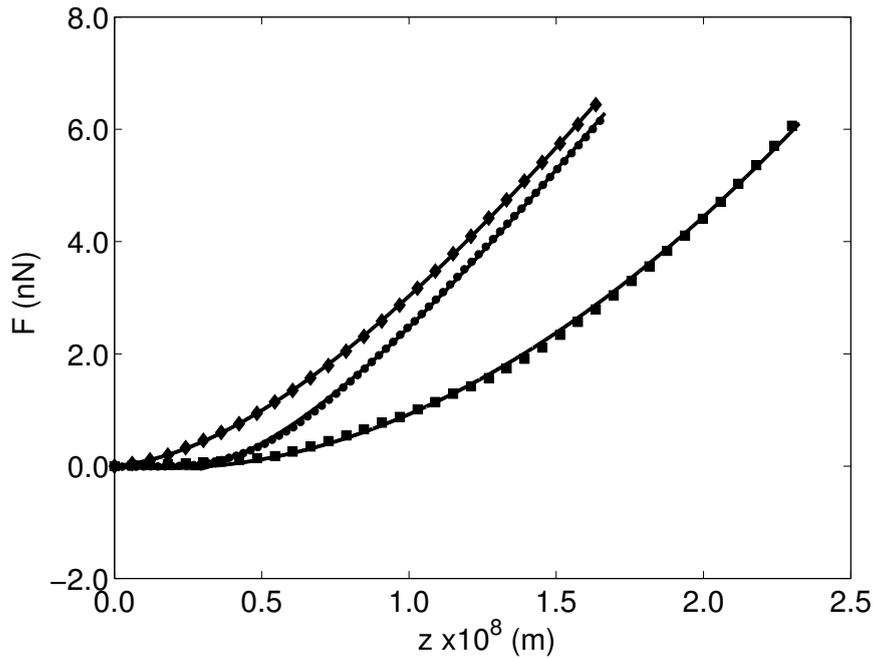


FIGURE 4.25 – Courbe de force pour des ponctuations saturées en eau sur sa membrane (PM) (\bullet), l'extrémité de sa paroi secondaire (PB1) (\blacksquare) et sa paroi secondaire proche de la jonction entre deux ponctuations (PB2) (\blacklozenge) mesurées en AFM et régressées par le modèle de Zener ($-$).

Les paramètres du modèle de Zener pour les trois zones des ponctuations sont regroupés dans le tableau 4.2.

Paramètres	PM	PB1	PB2
E_1 (GPa)	0.41	1.66	0.43
E_2 (GPa)	0.95	3.35	0.84
τ (s)	0.99	63.3	6.2

TABLE 4.2 – Paramètres de Zener pour la membrane de la ponctuation (PM), l'extrémité de la paroi secondaire (PB1) et la paroi secondaire proche de la jonction entre les ponctuations intervasculaires (PB2) déterminés par des expériences de nano-indentation sur des ponctuations saturées en eau. Les valeurs des paramètres de Zener sont données avec une précision de 15%.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons dans un premier temps remarquer que les zones PM et PB2 sont caractérisées par des paramètres de Zener proches. En revanche, PB1 a des modules d'Young et un temps de relaxation plus élevés. Cette zone (PB1) est donc plus résistante en terme de raideur que le reste de la ponctuation.

Des expériences d'immunomarquage ont été réalisées par l'équipe de l'INRA de Nantes. Ils ont observé que l'extrémité des parois secondaires (PB1) était enrichie en calcium par comparaison aux autres zones de la ponctuation (Fig. 4.26). Cette différence de composition chimique pourrait expliquer la variation dans les paramètres de Zener.

Cependant, tous les éléments de Zener des différentes parties de la ponctuation sont assez proches, ce qui signifie que la composition chimique et la structure semi-cristalline dans la ponctuation est assez homogène.

4.5 Conclusion

Nous avons proposé une approche nouvelle basée sur l'utilisation d'un AFM pour la mesure des propriétés nano-mécaniques de ponctuations. Nous avons pu mesurer des modules d'Young sur les vaisseaux du xylème et les différentes parties des ponctuations. Nous avons observé une bonne répétabilité dans nos mesures, malgré les difficultés à mettre en œuvre ces expériences. Cependant un des avantages de l'AFM est que nous pouvons sélectionner les zones à caractériser. Ces expériences pourront être améliorées en développant un système d'illumination locale des échantillons.

Pour conclure sur les expériences de nano-mécanique réalisées sur la paroi primaire des ponctuations, la valeur du module de la membrane de la ponctuation

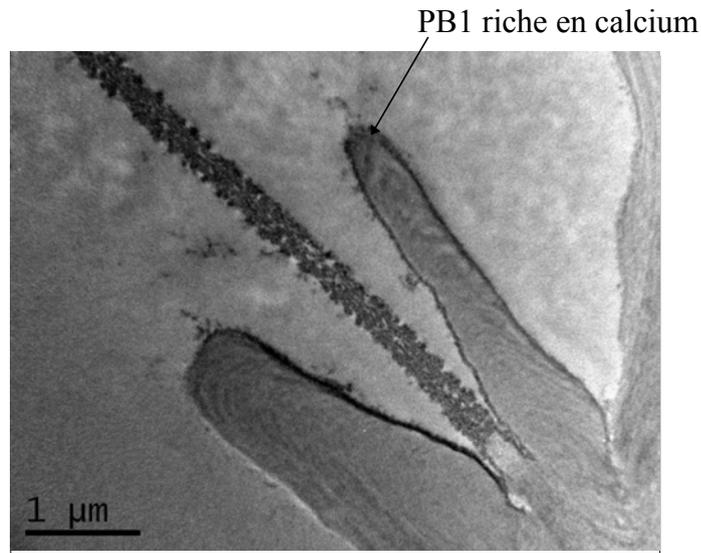


FIGURE 4.26 – Visualisation de la présence de calcium sur les extrémités des parois secondaires (PB1) [Bouchet 2012]

ation (PM) dans un état sec est d'environ 0.36 GPa et la valeur de ce module lorsque la membrane est saturée en eau est d'environ 0.41 GPa. Ces deux valeurs de modules sont proches aux incertitudes expérimentales près. Nous pouvons donc postuler sur le fait que les propriétés mécaniques de la membrane des punctuations (PM) sont peu affectées par la sorption d'eau.

Afin de valider les mesures que nous avons faites sur les parois primaires, nous allons comparer les déformations calculées à partir des modules mesurés en AFM aux déformations des membranes mesurées expérimentalement (chapitre 5).

Déformation des ponctuations : observations et modélisation

Sommaire

5.1	Comment observer expérimentalement la déformation des ponctuations ?	90
5.2	Observations expérimentales des déformations des ponctuations	94
5.2.1	Méthode d'injection	94
5.2.2	Distribution de longueur des vaisseaux	96
5.2.3	Déformées expérimentales des membranes primaires	100
5.2.4	Modélisation analytique	109
5.2.5	Modélisation par éléments finis des ponctuations	111
5.3	Conclusion	122

Dans le chapitre 4, des mesures du module d'Young des ponctuations ont été effectuées. Nous pouvons nous demander si les valeurs de module calculées sont réalistes et comment nous pouvons les valider. Dans la littérature, il existe très peu de données sur ce sujet et en particulier sur l'espèce du peuplier que nous étudions.

Une technique développée dans la littérature propose de mouler l'intérieur des vaisseaux. Cette méthode semble idéale pour observer la déformation expérimentale des ponctuations. Les déformations observées pourront être comparées aux déformations théoriques obtenues à partir des modules expérimentaux. Il sera présenté la méthode de micromoulage ainsi qu'une comparaison entre les résultats théoriques et expérimentaux.

Une modélisation plus complète de la déformation des ponctuations sera ensuite exposée. Ces modélisations prendront en compte l'effet des parois secondaires sur les parois primaires et seront effectuées avec le logiciel COMSOL. Le modèle utilisé sera exposé dans un premier temps et sera suivi par une analyse comparative des résultats.

5.1 Comment observer expérimentalement la déformation des ponctuations ?

La connaissance du nombre de conduits de xylème, de leurs longueurs ainsi que de la manière dont les membranes des ponctuations sont déformées sont des informations importantes. Elles permettront de comprendre les mécanismes de résistance à la diffusion d'air à travers les membranes des ponctuations. Le micromoulage est une technique simple offrant la possibilité d'observer en trois dimensions la structure interne des vaisseaux de xylème sans les endommager durant l'injection. A l'origine, cette technique était largement utilisée en médecine pour étudier l'architecture des vaisseaux sanguins. Les premières applications de cette méthode en anatomie du bois furent faites par [Saiki 1975] et [Okumura 1976].

Le principe de la technique de micromoulage est de perfuser les vaisseaux du xylème par un polymère avant qu'il ne réticule dans le but de visualiser les vaisseaux sous la forme de filaments. Les moulages résultants après réticulation conservent la structure des vaisseaux, leurs formes d'origine et la position de chaque élément du système vasculaire avec une résolution micrométrique [Tyree 2001]. Les moulages des vaisseaux sont récupérés dans la masse de bois après la dissolution enzymatique de la cellulose. De nombreuses données

5.1. Comment observer expérimentalement la déformation des ponctuations ? 91

obtenues par André [André 1998, André 1999, André 2001, André 2002] avec cette méthode, à partir de plus d'une cinquantaine d'espèces différentes d'angiospermes, révèlent que la structure interne est plus complexe qu'un simple motif avec des éléments linéaires perforés à leurs extrémités. La géométrie des vaisseaux a été découverte par ces études. Aussi, de nouvelles géométries des vaisseaux ont été découvertes telles que des géométries circulaires, en "zigzag", ramifiées ou encore hétérogènes (Fig. 5.1).

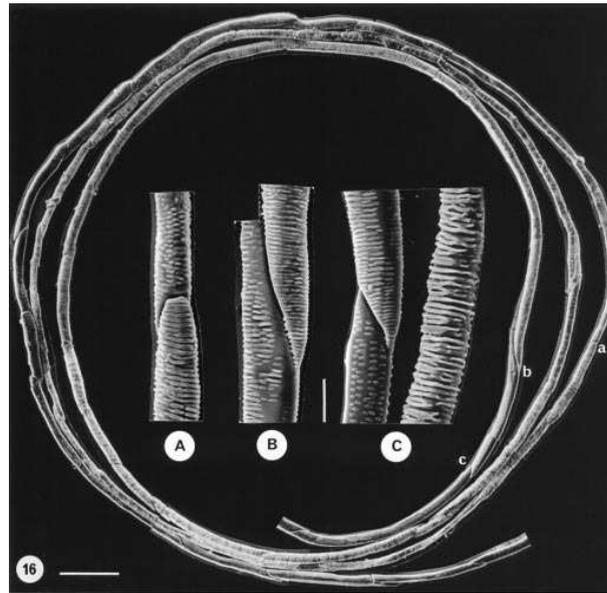


FIGURE 5.1 – Observation en MEB des vaisseaux d'*Acer pseudoplatanus* : (A) vaisseaux hétérogènes, (B) vaisseaux hélicoïdales ramifiés et (C) vaisseaux recouverts de ponctuations (barre d'échelle = 500 μ m à l'extérieur et 50 μ m à l'intérieur) [André 1998].

Dans la littérature, il existe d'autres études utilisant ces techniques. Fujii a employé l'injection de résine pour étudier l'anatomie de certaines espèces de *Fagaceae*. Les micromoulages ont été observés par MEB [Fujii 1993]. Les cavités des ponctuations ont été visualisées sur certains vaisseaux (Fig. 5.2). Cette étude se porte essentiellement sur la géométrie des canaux comportant des ponctuations ainsi que sur la communication naturelle entre deux conduits anatomiques.

Kitin a étudié des micromoulages de polystyrène provenant d'injection dans des cellules du cambium et du xylème d'un spécimen de *Kalopanax pictus* [Kitin 2001]. Leurs observations par MEB ont montré que le styrène avait

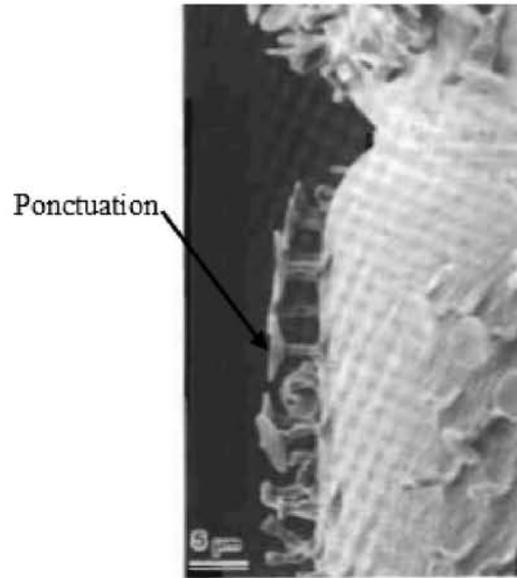


FIGURE 5.2 – Observation en MEB d’un micromoulage des ponctuations présentes dans les vaisseaux de *Quercus acutissima* (barre d’échelle = 5 μm) [Fujii 1993].

totalemment rempli les lumens des cellules cambiales ainsi que les cavités des ponctuations et qu’il n’a pas infiltré les parois des vaisseaux. Ils comparent deux méthodes de digestion (dissolution des tissus organiques) l’une enzymatique (Fig. 5.3a) et l’autre non-enzymatique (Fig. 5.3b) dans le but de différencier au mieux les cellules cambiales. Nous pouvons voir certaines structures (les ponctuations) sur les images qui proviennent des échantillons digérés enzymatiquement qui ne sont pas observables sur les images obtenues à partir des échantillons digérés non-enzymatiquement. Ils arrivent à la conclusion que la digestion enzymatique permet une meilleure préservation de l’organisation en trois dimensions des tissus.

Les différentes études présentées prouvent qu’il est possible d’observer à partir de micromoulages l’intérieur des vaisseaux du xylème et de caractériser des ponctuations. Aussi, cette technique est adaptée à l’étude de la déformation des parois primaires des ponctuations.

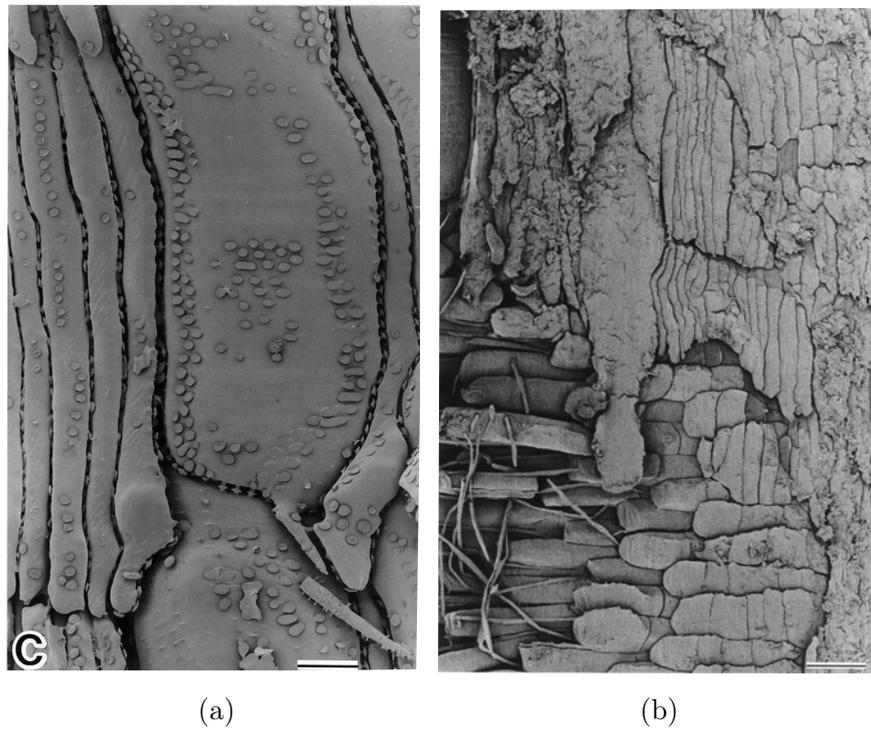


FIGURE 5.3 – Comparaison d’une digestion enzymatique (a) et non-enzymatique (b) des cellules du cambium. Sur la figure (a), on peut distinguer des ponctuations ce qui n’est pas le cas sur la figure (b) (barre d’échelle = 50 μm) [Kitin 2001].

5.2 Observations expérimentales des déformations des ponctuations

Le but de cette partie est de mouler les vaisseaux du xylème pour différentes pressions d'injection. Le moulage du xylème se fera en injectant du silicone dans les capillaires. La méthode d'injection sera présentée dans une première section. Les filaments de silicone seront ensuite visualisés par microscopie dans le but d'étudier la distribution des longueurs des vaisseaux conducteurs et la déformation des parois primaires des ponctuations. Les résultats de notre étude seront présentés dans un second temps.

5.2.1 Méthode d'injection

Les échantillons que nous utilisons pour les expériences de micromoulage proviennent du même individu de peuplier que celui utilisé lors des expériences AFM. Les branches que nous avons utilisées pour réaliser les expériences ont été coupées durant le mois de mars 2013. Ces branches ont été conservées dans l'eau en chambre froide avant leur utilisation.

Avant de débiter l'injection, il faut préparer le silicone. Le silicone utilisé est le "RTV 141 silicone". Les filaments de silicone sont stables face aux agents chimiques utilisés lors de la digestion des matières organiques [Kitin 2001]. Le liquide de moulage est fabriqué à partir des deux composants du silicone RTV 141, nommés A et B dans une proportion de 10 : 1, respectivement. Avant utilisation, le liquide de moulage est dégazé. Le liquide est donc progressivement placé sous vide, le vide étant maintenu pendant 2 heures.

Les branches que nous avons utilisées ont une longueur comprise entre 13 et 15 cm et un diamètre d'environ 5 mm. Les extrémités de ces branches ont été coupées avec une lame de rasoir dans le but d'ouvrir tous les vaisseaux. Cette coupe se fait sous eau pour s'assurer que les vaisseaux ne se remplissent pas d'air durant la coupe. Les échantillons utilisés sont donc initialement remplis de sève. La branche est ensuite placée dans le dispositif expérimental présenté sur la figure 5.4.

La pression à l'intérieur de la chambre est augmentée jusqu'à obtenir la différence de pression souhaitée. La pression dans la chambre est maintenue constante pendant 3 heures. Durant cette période d'injection, le silicone monte dans les vaisseaux en remplaçant la sève puis commence à réticuler. Des études antérieures ont montrées que ce silicone ne pénètre pas les parois primaires des ponctuations [André 2002]. Les micromoulages ont été réalisés pour trois différentes pressions : $\Delta P = 0.2$ MPa, $\Delta P = 1.8$ MPa et $\Delta P = 2.2$ MPa. Les

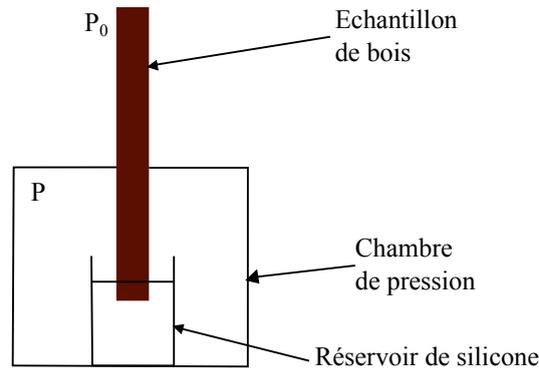


FIGURE 5.4 – Dispositif expérimental utilisé pour l’injection de silicone dans les vaisseaux du xylème. Cette chambre de pression est étanche et reliée à une bouteille d’air comprimé. La pression d’injection est P dans la chambre.

micromoulages ont été réalisés sur deux échantillons différents pour chaque pression. Une fois l’injection terminée, nous avons diminué progressivement la pression dans la chambre pour atteindre la pression atmosphérique. A température ambiante, la réticulation du silicone est totale après une durée de 24 à 48 heures. La chaleur favorise une accélération de la réticulation. L’échantillon siliconé est donc placé dans une étuve pendant 3 heures à 50°C . Ce temps passé dans l’étuve permet une réticulation plus rapide, un gain de temps pour récupérer les moulages de silicone ainsi que le ramollissement de la paroi. Une fois le silicone complètement réticulé, nous pouvons démouler les échantillons.

Nous récupérons les échantillons de bois que nous immergeons dans un bain de solution de Franklin qui est composée de H_2O_2 et d’acide acétique glacial dans les mêmes proportions volumiques (50% – 50% en volume) durant toute une nuit. Cette étape de macération attaque la lamelle moyenne des cellules, ce qui facilitera par la suite l’attaque acide. Il faut ensuite plonger les échantillons dans une solution d’acide sulfurique dont la concentration est de 72% en poids. L’hydrolyse progresse à raison d’un ou deux millimètres par jour et se termine lorsque l’échantillon devient noir et mou. Lors de la digestion, l’acide sulfurique est changé toutes les deux heures. Une journée dans l’acide est suffisante pour que la digestion soit totale. Il est alors nécessaire de neutraliser l’échantillon en le transférant dans un grand volume d’eau et en y ajoutant progressivement 300 mL d’une solution de bicarbonate de sodium jusqu’à la fin de l’effervescence. Pour finir, les échantillons sont placés dans une boîte de Petri contenant 150 mL de solution de Parazone composée à 50% d’hypochlorite de sodium, ce qui permet de blanchir les filaments de silicone afin de les visualiser plus facilement sous loupe binoculaire [Sperry 2005, Wheeler 2005].

Les micromoulages ont été visualisés par microscopie optique ainsi que par MEB. Avant observation sous microscope optique, les moulages ont été rincés à l'eau distillée [Kitin 2001] et placés dans du glycérol sur une lamelle de verre. Les images optiques ont été obtenues avec un grossissement compris entre $\times 10$ et $\times 100$. Le MEB utilisé pour cette étude est le modèle SEM 505, Philips qui se situe au plateau Technique de Microscopie (PTM) du Centre Institut National de la Recherche Agronomique, Theix (Clermont-Ferrand, France).

5.2.2 Distribution de longueur des vaisseaux

Les micromoulages ont été réalisés essentiellement pour valider expérimentalement les modules d'Young des parois primaires des ponctuations mesurées par AFM (chapitre 4). De plus, ces expériences nous permettront aussi de mesurer la longueur des vaisseaux du xylème.

Nous pouvons voir sur la figure 5.5 un moulage d'un vaisseau en silicone.



FIGURE 5.5 – Moulage en silicone d'un vaisseau de xylème.

Lors de l'étape d'injection, le silicone entre dans tous les vaisseaux présents sur l'aire de contact du bois. Le silicone utilisé ne traverse pas les membranes des ponctuations. A l'autre extrémité de la branche, les vaisseaux ne seront donc pas tous remplis de silicone.

L'étude de la distribution des vaisseaux en fonction de la hauteur à la zone d'injection nous fournira des informations concernant la longueur max-

imale des vaisseaux. Nous pourrions aussi connaître à quelle longueur de la branche il y aura une plus grande probabilité d'obtenir des vaisseaux isolés. Les vaisseaux isolés sont des vaisseaux remplis de silicone entourés de vaisseaux remplis d'air. Les vaisseaux isolés nous permettent d'être assuré qu'il existe une différence de pression ΔP entre ces vaisseaux et ceux environnants. Ce ΔP est celui de d'injection.

La distribution des longueurs sera étudiée à partir de coupes transversales des branches de peuplier effectuées entre le séchage et la digestion des échantillons. Les branches ont été coupées avec un microtome à glissière et les coupes ont été observées en microscopie optique sous rayon UV. En effet, le silicone contient une substance réfléchissant les rayons UV, nommée Uvitex permettant de différencier facilement les vaisseaux remplis de silicone et ceux qui ne le sont pas. A partir des images optiques, nous comptons manuellement le nombre de vaisseaux remplis de silicone sur une même aire de xylème, à savoir un rectangle de 0.65 mm de largeur sur 0.86 mm de longueur. Ceci nous donnera la distribution de vaisseaux remplis de silicone par rapport à la distance de la zone d'injection du silicone [Sperry 2005].

La diminution du nombre de conduits remplis de silicone, N_L , par rapport à la distance, L , de la zone d'injection de silicone suit une distribution de Poisson :

$$N_L = N_0 \exp(-kL), \quad (5.1)$$

où N_0 est le nombre de conduits sur la surface d'injection qui a été mesurée optiquement et k le coefficient d'atténuation ajusté par régression [Cohen 2003].

A partir de cette distribution, la valeur moyenne du nombre de vaisseaux conducteurs $\langle L \rangle$ peut être calculée :

$$\langle L \rangle = \int_0^{\infty} L \frac{dN_L}{N_0} = \frac{1}{k}. \quad (5.2)$$

Les images des coupes transversales à partir desquelles nous avons pu compter le nombre de vaisseaux siliconés, que nous obtenons avec un grossissement $\times 10$ sont présentées sur la figure 5.6 :

Nous pouvons voir sur la figure 5.6 que la majorité des vaisseaux sont remplis de silicone. Il y a très peu de vaisseaux isolés sur cette partie de l'échantillon. Pour observer de tels vaisseaux, il faut alors se placer dans l'échantillon plus haut par rapport à la zone d'injection de silicone.

Nous pouvons voir sur la figure 5.7 qu'il y a présence de vaisseaux isolés à cette distance de 6 cm de la zone d'injection du silicone. Cette distance est un bon compromis entre le nombre de vaisseaux remplis de silicone et le nombre

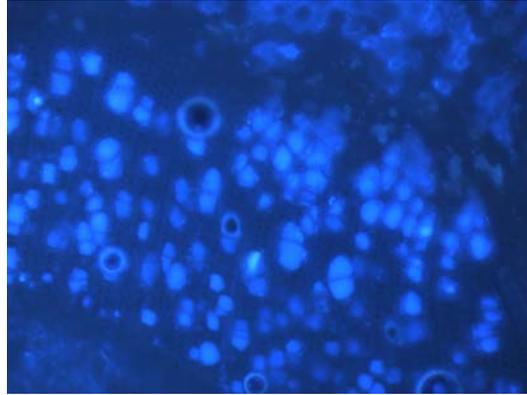


FIGURE 5.6 – Coupe transversale des échantillons siliconés après séchage à une longueur de 1 cm de la zone d’injection du silicone (microscopie optique x10) ; on en déduit $N_L = 135$ par comptage manuel.

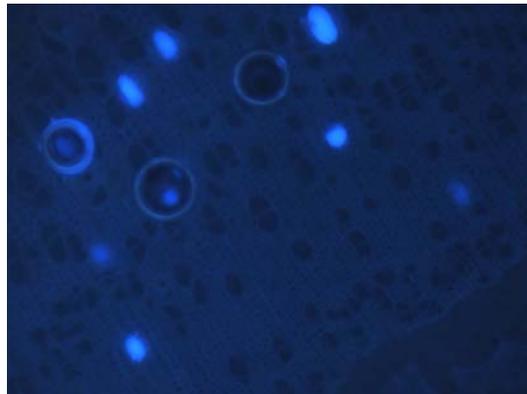


FIGURE 5.7 – Coupe transversale des échantillons siliconés après séchage à une longueur de 6 cm de la zone d’injection du silicone (microscopie optique x10) ; on en déduit $N_L = 9$ par comptage manuel.

de vaisseaux isolés.

Si nous nous plaçons dans l'échantillon plus haut de la zone d'injection, la quantité de vaisseaux siliconés est très faible. Il est donc plus difficile de les extraire sous la loupe binoculaire (Fig. 5.8).

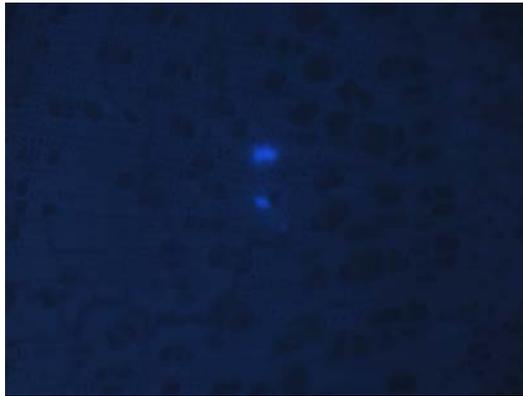


FIGURE 5.8 – Coupe transversale des échantillons siliconés après séchage à une longueur de 8 cm de la zone d'injection du silicone (microscopie optique $\times 10$); on en déduit $N_L = 2$ par comptage manuel.

A partir de l'analyse des images précédentes, pour nos trois pressions d'étude, nous avons pu tracer l'évolution du nombre de conduits remplis de silicone en fonction de la distance à la zone d'injection de silicone. Les résultats sont présentés sur la figure 5.9.

La valeur moyenne de la longueur des vaisseaux $\langle L \rangle$ pour les échantillons que nous avons utilisés est 1.7 ± 0.4 cm. Le coefficient d'atténuation est de : $k = 0.72 \pm 0.07$. Des expériences d'injection d'air qui seront présentées dans le chapitre suivant ont montré que la longueur des vaisseaux du xylème est de 15 cm. A partir de la loi de distribution de la longueur des vaisseaux, $N = N_0 \exp(-0.72L)$, le nombre de vaisseaux conducteurs ayant une longueur de 15 cm peut être calculé pour des échantillons ayant un diamètre de 5 mm et un nombre de conduits $N_0 = 20000$. Ce nombre est de 2.5. Ce résultat sera utilisé dans le chapitre suivant.

A partir de ces courbes expérimentales, nous décidons donc de digérer deux centimètres de l'échantillon situés à une distance de 5 et 6 cm de la zone d'injection du silicone. A cette distance, nous considérons que l'ensemble des vaisseaux siliconés seront isolés et que leur nombre sera assez important pour pouvoir les récupérer facilement sous loupe binoculaire.

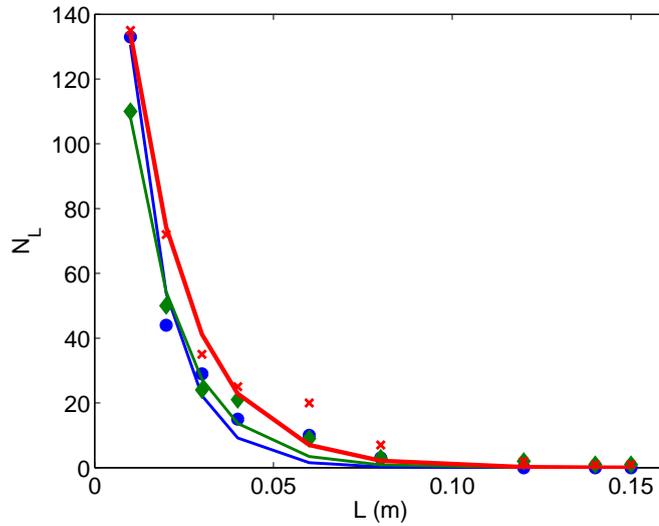


FIGURE 5.9 – Evolution du nombre de vaisseaux remplis de silicone (N_L) en fonction de la distance de la zone d’injection de silicone (L) à 0.2 MPa (\bullet), 1.8 MPa (\diamond) et 2.2 MPa (\times) ainsi que leurs régressions à 0.2 MPa ($-$), 1.8 MPa ($-$) et 2.2 MPa ($-$).

5.2.3 Déformées expérimentales des membranes primaires

Afin de comprendre le rôle des ponctuations dans la résistance à l’embolie gazeuse du peuplier, il est essentiel de pouvoir modéliser la déformation de celles-ci. A partir des déformations observées sur les micromoulages, nous confrontons les modèles mécaniques permettant de représenter au mieux la déformée des membranes de ponctuations.

Les échantillons ont été observés en microscopie optique ($\times 100$) et en MEB. A partir des images des ponctuations déformées obtenues en microscopie, nous relevons des membranes primaires à l’aide du logiciel Matlab®. Ces déformées seront ensuite comparées aux modèles mécaniques. Cette comparaison sera développée dans la section suivante. A partir des points expérimentaux, nous mesurons le diamètre des membranes primaires, R_{pit} , ainsi que celui des membranes secondaires, r . L’épaisseur de la membrane primaire que nous utilisons est celle qui a été présentée dans le chapitre 4. Dans la présentation des déformées qui va suivre, les tracés sont adimensionnalisés par le rayon de la ponctuation R_{pit} . La variabilité de ce rayon nous empêche de comparer les déformées d’une ponctuation à l’autre. Cette section présente une

étude comparative des déformées obtenues en microscopie optique et en MEB.

La figure 5.10 représente les filaments de silicone que nous obtenons pour les injections à une pression de 0.2 MPa. La visualisation a été réalisée en microscopie optique (Fig. 5.10a) et en MEB (Fig. 5.10b). L'observation des micromoulages en microscopie optique n'a pas été concluante. En effet, nous n'avons pas pu avoir de correspondance entre le modèle théorique et les contours expérimentaux.

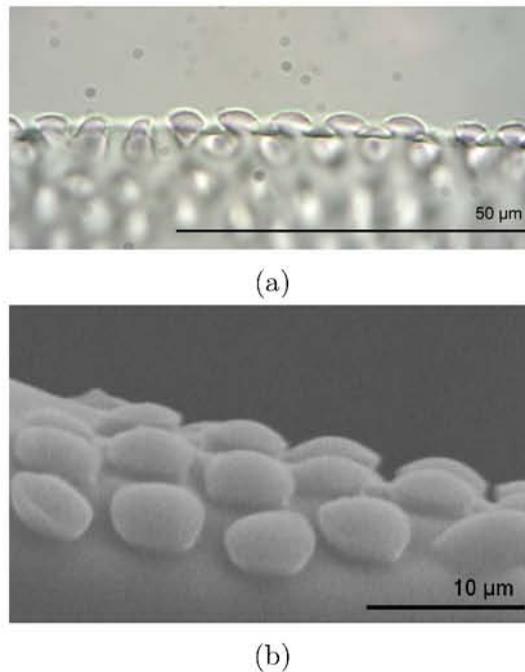


FIGURE 5.10 – Micromoulages de vaisseaux de xylème à 0.2 MPa en microscopie optique (a) et MEB (b).

Nous pouvons noter qu'il est difficile de récupérer les données expérimentales pour des déformations aussi faibles. Ceci explique l'imprécision des mesures des déformations expérimentales (Fig. 5.11). La déformation maximale de la membrane est $\varepsilon = 4 \pm 0.5\%$ pour l'ensemble des déformées traitées à cette pression. Les parois secondaires n'ont pas encore, à cette pression d'influence sur la forme.

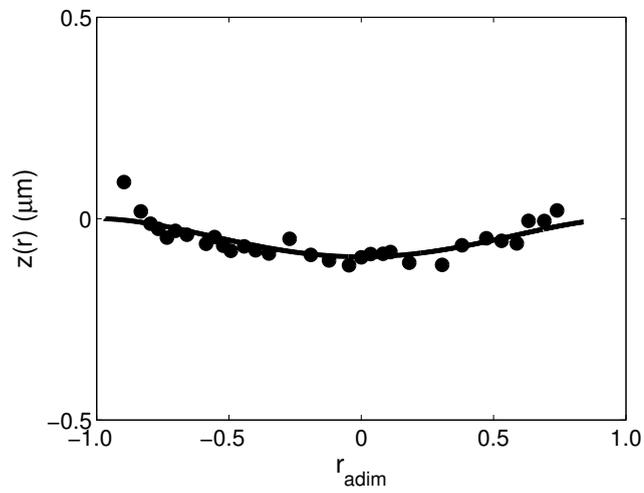


FIGURE 5.11 – Comparaison entre la modélisation de la déformation avec $E = 0.41$ GPa (—) à 0.2 MPa de la membrane des ponctuations aux points expérimentaux (●) à partir d’images obtenues en MEB avec $E = 0.41$ GPa et $R_{\text{pit}} = 2.7 \mu\text{m}$.

Passons maintenant à l'étude des déformations de la paroi primaire pour une pression d'injection $\Delta P = 1.8$ MPa. La figure 5.12 représente les filaments de silicone que nous obtenons pour les injections à cette pression. La visualisation a été réalisée en microscopie optique (Fig. 5.12a) et en MEB (Fig. 5.12b).

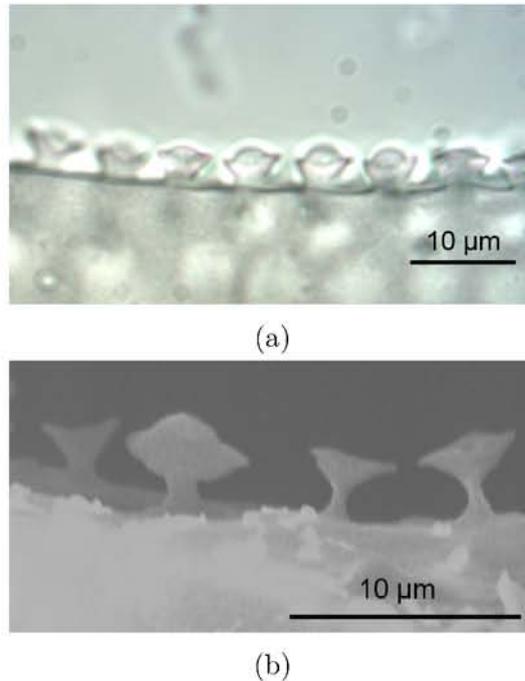


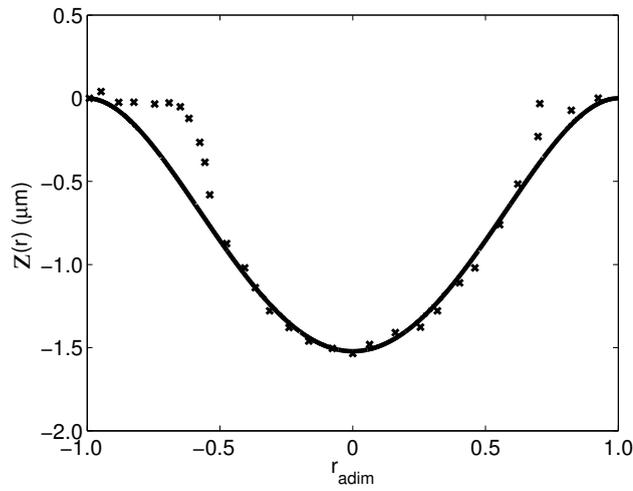
FIGURE 5.12 – Micromoulages de vaisseaux de xylème à 1.8 MPa en microscopie optique (a) et MEB (b).

A partir des images en microscopie optique, nous avons pu exploiter plusieurs contours (Fig. 5.13).

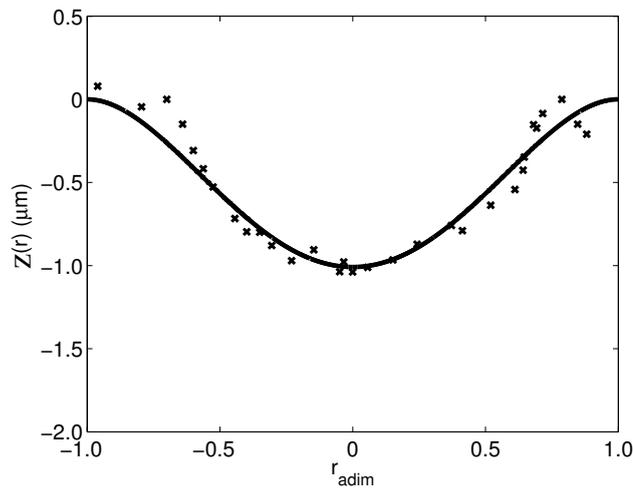
La différence de déformation maximale entre les différentes courbes est due au fait que la déformation de la membrane dépend du rayon de la membrane, R_{pit} , à la puissance 4 et que les rayons des membranes sont tous différents. En effet, une petite variation de R_{pit} provoque une grande différence de déformation.

Sur l'ensemble des figures obtenues en microscopie optique, nous voyons que les parois secondaires ont une influence sur la forme de la paroi primaire. Nous pouvons le voir sur les extrémités des déformations où nous observons un décrochage.

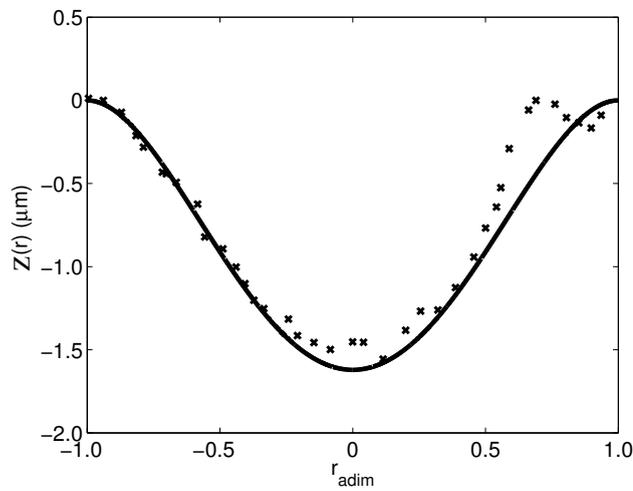
A partir des images en microscopie MEB, nous n'avons pu exploiter que deux contours (Fig. 5.14).



(a)



(b)



(c)

FIGURE 5.13 – Comparaison entre les modélisations de la déformation avec $E = 0.65$ GPa (a), $E = 0.41$ GPa (b), $E = 0.5$ GPa (c) (—) à $\Delta P = 1.8$ MPa de la membrane des ponctuations aux points expérimentaux (\times) à partir d'images obtenues en microscopie optique ($\times 100$).

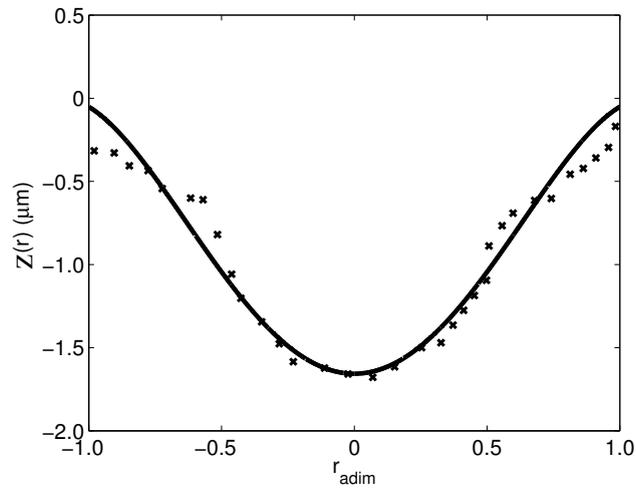


FIGURE 5.14 – Comparaison entre les modélisations de la déformation avec $E = 0.41$ GPa (–) à $\Delta P = 1.8$ MPa de la membrane des ponctuations aux points expérimentaux (\times) à partir d’images obtenues en MEB.

La déformation maximale de la membrane est $\varepsilon = 44 \pm 8.3\%$ pour l’ensemble des déformées traitées à cette pression.

La figure 5.15 représente les filaments de silicone que nous obtenons pour les injections à une pression de 2.2 MPa. Ces observations ont été réalisées en microscopie optique (Fig. 5.15a) et en MEB (Fig. 5.15b).

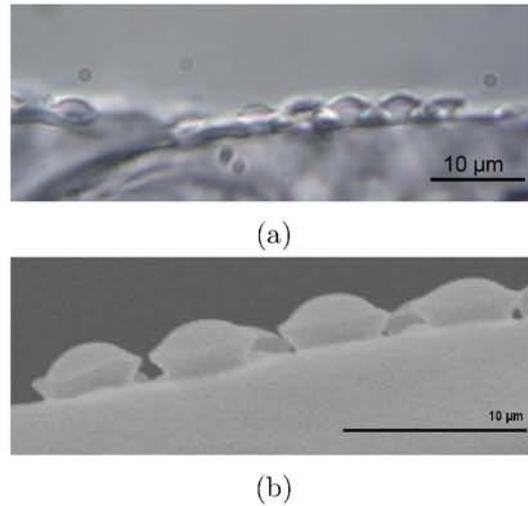


FIGURE 5.15 – Micromoulages de vaisseaux de xylème à 2.2 MPa en microscopie optique (a) et MEB (b).

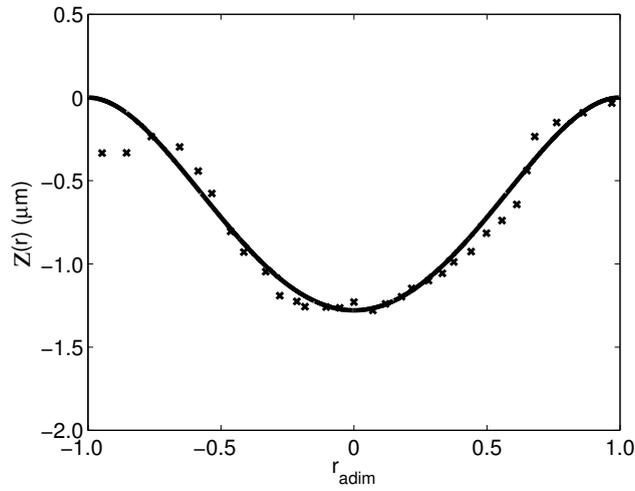
A partir des images en microscopie optique, nous avons pu exploiter plusieurs contours (Fig.5.16).

A partir des images en microscopie MEB, nous avons pu exploiter plusieurs contours (Fig.5.17).

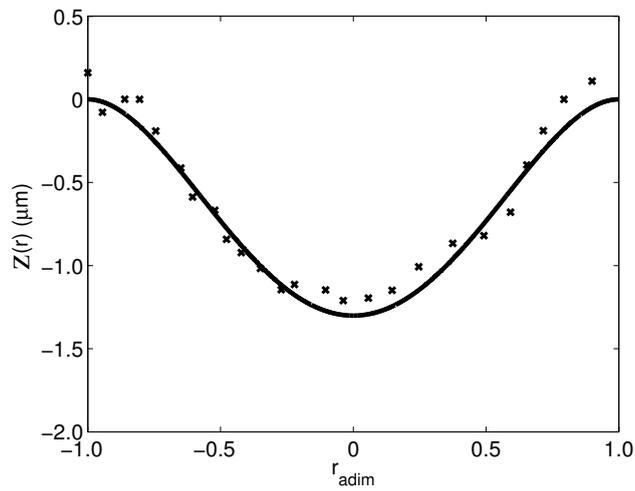
La déformation maximale de la membrane est $\varepsilon = 49 \pm 3.7\%$ pour l'ensemble des déformées traitées à cette pression.

A partir des images de microscopies optique et électronique, la structure des ponctuations a été étudiée (Fig. 5.18). Nous voyons sur cette figure 5.18 que les ponctuations sont reliées entre elles par la paroi cellulaire. De plus, nous pouvons voir la présence des parois secondaires en forme de mâchoires entourant la membrane de la ponctuation.

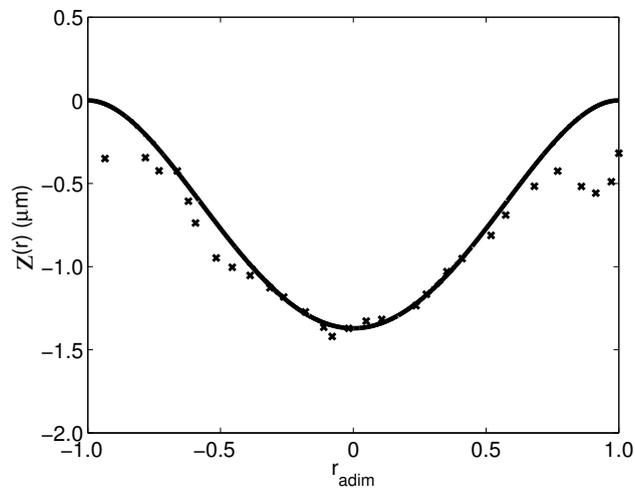
A partir des images obtenues, il est donc possible de déterminer l'épaisseur des parois secondaires. L'épaisseur moyenne que nous avons pu mesurer à partir de l'étude des filaments de silicone est de $1.98 \mu\text{m}$. Cette épaisseur a été comparée à celles obtenues en MET où nous pouvions visualiser des coupes transversales de ponctuations de la même espèce. L'épaisseur des parois secondaires obtenues à partir de l'analyse d'images obtenues en MET est de $1.99 \mu\text{m}$. Les deux épaisseurs sont proches, ce qui nous permet de valider la présence des parois secondaires autour des membranes et la possibilité de les visualiser sur les filaments de silicone.



(a)



(b)



(c)

FIGURE 5.16 – Comparaison entre les modélisations de la déformation (—) avec $E = 0.65$ GPa (a), (b) et (c) à 2.2 MPa de la membrane des ponctuations aux points expérimentaux (\times) à partir d'images obtenues en microscopie optique ($\times 100$)

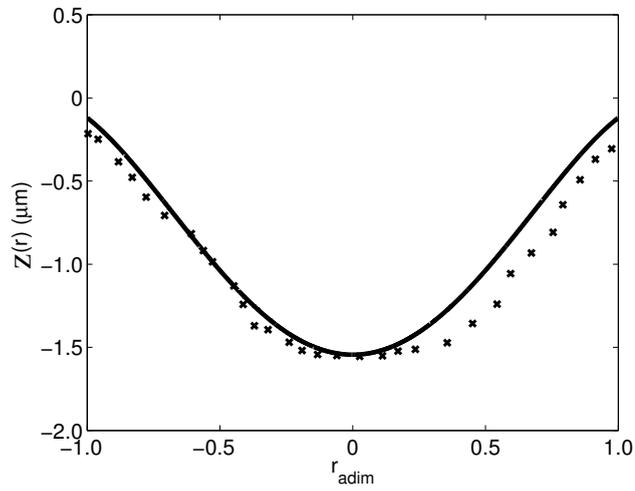


FIGURE 5.17 – Comparaison entre les modélisations de la déformation (—) avec $E = 0.65$ GPa à 2.2 MPa de la membrane des ponctuations aux points expérimentaux (×) à partir d’images obtenues en MEB

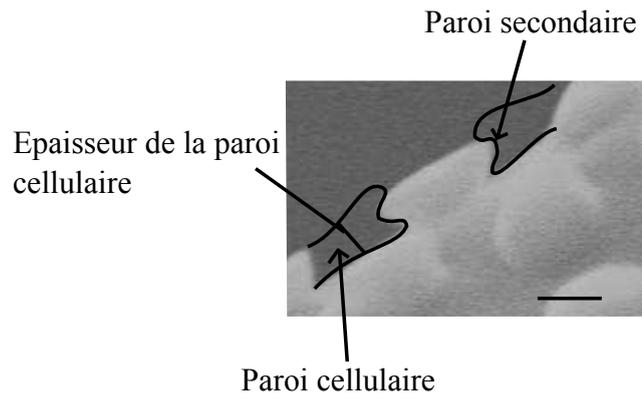


FIGURE 5.18 – Schéma de l’architecture des ponctuations (barre d’échelle = 5 μm).

5.2.4 Modélisation analytique

Les contours des ponctuations déformées ont été comparés aux déformations calculées à partir de la théorie de l'élasticité linéaire. Dans un premier temps, nous avons considéré la membrane comme étant une plaque circulaire dont les bords étaient en rotation libre. La déflexion de la membrane, $z(r)$, peut être modélisée par l'expression suivante [Timoshenko 1959] :

$$z(r) = \frac{12(1 - \nu^2)}{16(1 + \nu)} \frac{\Delta P R_{pit}^2 (R_{pit}^2 - r^2)}{E e^3}, \quad (5.3)$$

où ν est le coefficient de Poisson dont la valeur est de 0.23 [Green 1999], ΔP la pression d'injection, R_{pit} le diamètre de la membrane de la ponctuation, E le module d'Young de la membrane de la ponctuation et e l'épaisseur de la membrane de la ponctuation.

Dans un second temps, nous avons considéré que la membrane d'une ponctuation était une plaque circulaire encastree. La déflexion de la membrane, $z(r)$, peut être modélisée par l'expression suivante [Timoshenko 1959] :

$$z(r) = \frac{12(1 - \nu^2)}{64} \frac{\Delta P (R_{pit}^2 - r^2)^2}{E e^3}. \quad (5.4)$$

A titre d'exemple et à $\Delta P = 2.2$ MPa, nous avons cherché à déterminer le module qui permet un meilleur ajustement des courbes théoriques calculées à partir des équations 5.3 et 5.4 et celles expérimentales. Pour le module de la plaque encastree (5.4), nous obtenons $E = 0.65$ GPa. Pour le module de la plaque à rotation libre, nous obtenons $E = 2.2$ GPa (Fig. 5.19).

Nous pouvons voir que l'appui simple (eq. 5.3) ne représente pas correctement la forme de la déformée de la membrane. En revanche, le second modèle (eq. 5.4) représente correctement la déformée. Nous choisirons donc le second modèle pour l'étude des micromoules.

Pour la suite de l'étude, le module d'Young est le seul paramètre sur lequel nous pourrions jouer pour faire correspondre le modèle théorique à la déformation expérimentale pour cette première représentation. Pour chaque ponctuation étudiée, ce module sera donc ajusté pour avoir la meilleure correspondance entre la théorie et les expériences. Les résultats sont présentés ci-dessous. A partir des contours obtenus en MEB à $\Delta P = 0.2$ MPa (Fig. 5.11), nous avons obtenu une bonne concordance entre les expériences et le modèle théorique (eq. 5.4). En effet, pour un module d'Young de 0.41 ± 0.15 GPa, le modèle théorique se superpose aux données expérimentales. Pour les modélisations à une pression de 1.8 MPa, le module d'Young apparent utilisé est de 0.51 ± 0.06 GPa pour la microscopie optique (Fig. 5.13) et

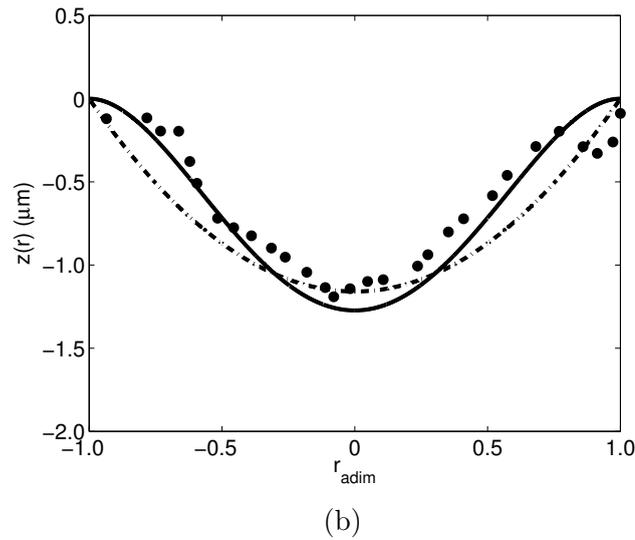
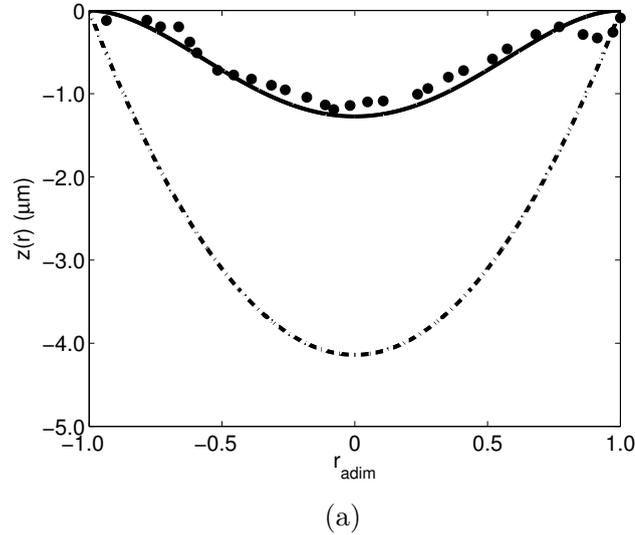


FIGURE 5.19 – (a) : Déformation d’une ponctuation à $\Delta P = 2.2$ MPa (\bullet); Modélisation de la déformation pour un module d’Young $E = 0.65$ GPa en considérant que la ponctuation est une plaque circulaire en appui simple (.-) et encastree (-). (b) : Déformation expérimentale d’une ponctuation à $\Delta P = 2.2$ MPa (\bullet); Modélisation de la déformation pour un module d’Young $E = 2.2$ GPa en considérant que la ponctuation est une plaque circulaire en appui simple (.-) et pour un module d’Young $E = 0.65$ GPa en considérant que la ponctuation est une plaque circulaire encastree (-).

de 0.41 ± 0.13 GPa pour le MEB (Fig. 5.14). Nous pouvons en conclure que les parois secondaires commencent à rigidifier la paroi primaire. Le module d'Young apparent modélisant au mieux les déformations expérimentales pour une pression de 2.2 MPa est de 0.65 ± 0.10 GPa en microscopie optique (Fig. 5.16) et de 0.66 ± 0.10 GPa en MEB (Fig. 5.17).

Nous observons un bon accord pour les modules entre les observations en microscopie optique, MEB et le modèle analytique. Sur les deux tiers de la surface, la déformée peut être représentée par un modèle analytique. Cependant dans les deux cas, les bords de la membrane ne sont pas correctement représentés. L'existence des parois secondaires entraîne une augmentation du module apparent de la membrane.

5.2.5 Modélisation par éléments finis des ponctuations

Nous souhaitons, dans cette section, modéliser par éléments finis la déformation des ponctuations lorsqu'elles sont soumises à des variations de pression. Nous avons pu voir dans la section précédente que la présence des mâchoires limite la déformation près des bords d'encastrement et intensifie la déformation au centre de la membrane. Grâce à cette modélisation, le rôle des mâchoires sera mieux appréhendé. Le modèle utilisé pour représenter la déformation des membranes sera confronté aux simulations numériques.

Configuration du modèle de ponctuations

Le logiciel COMSOL Multiphysics® version 4.1 a été utilisé pour proposer une modélisation des ponctuations de peuplier. COMSOL Multiphysics® est un logiciel de simulation numérique basé sur la méthode des éléments finis. La géométrie de la ponctuation est en 3D. L'option "Solids mechanics" du module "Structural Mechanics" est utilisée pour représenter la physique du problème. Les modélisations sont réalisées en régime stationnaire.

La géométrie de la ponctuation est représentée sur la figure 5.21a. La paroi primaire est composée d'un cylindre ayant une épaisseur de 310 nm. Le rayon de la paroi primaire R varie entre 2 et 3.5 μm selon les ponctuations que nous souhaitons modéliser. Une de ses faces est chargée à la pression souhaitée (0.2, 1.8 ou 2.2 MPa). Le matériel utilisé a pour caractéristiques un coefficient de Poisson de 0.23 et une masse volumique de 390 kg/m^3 [Green 1999]. Le module d'Young est ajusté lors des simulations afin de faire correspondre les déformations simulées à celles obtenues sur les micromoulages. Pour rendre les modélisations réalistes, les parois extérieures de la membrane sont fixes.

Nous souhaitons préciser que, dans ces modélisations, les parois primaires ne sont pas poreuses.

Les parois secondaires situées au-dessus et en dessous de la paroi primaire sont représentées par des anneaux cylindriques ayant une épaisseur de 500 nm. Cette épaisseur correspond à l'épaisseur moyenne des parois secondaires mesurée à partir d'environ 20 images obtenues en MET sur des coupes transversales de ponctuation. A partir des déformations expérimentales, il est possible de mesurer le rayon de la paroi secondaire, r (Fig. 5.20). Ce rayon est une caractéristique structurelle qui varie pour chaque ponctuation. Le matériel utilisé a pour caractéristiques un coefficient de Poisson de 0.23, une masse volumique de 390 kg/m^3 et un module d'Young de 0.43 GPa; cette valeur correspond à celle que nous avons mesurée avec l'AFM sur la paroi secondaire de ponctuations saturées en eau. Les bords extérieurs de la paroi secondaire sont fixes. La paroi secondaire, se situant au - dessus de la face chargée de la paroi primaire, est aussi chargée à la même pression que la paroi primaire. La paroi secondaire se situant sous la paroi primaire est en contact avec la paroi primaire, à l'instant initial.

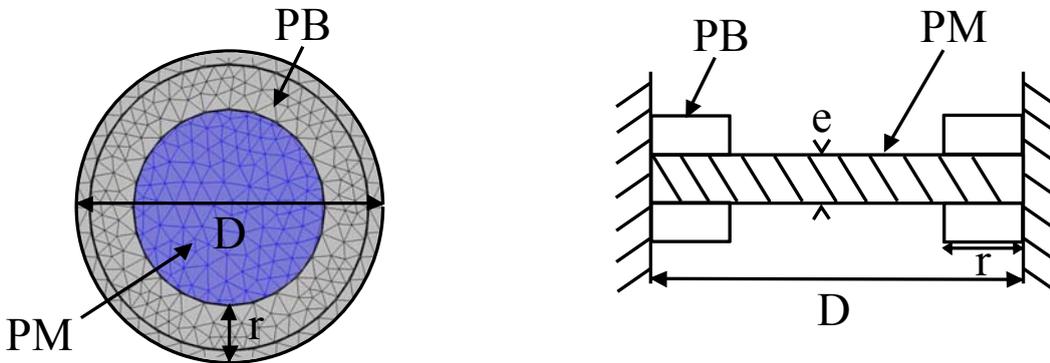


FIGURE 5.20 – Représentation schématique d'une ponctuation modélisée avec COMSOL Multiphysics®, avec r le rayon de la paroi secondaire, $D = R/2$ le diamètre et e l'épaisseur de la paroi primaire.

L'ensemble du système est décrit par la théorie d'élasticité linéaire.

Le chargement en pression des faces de la ponctuation est représenté sur la figure 5.21b. Les faces fixes permettant le maintien des ponctuations sont représentées sur la figure 5.21c. Le maillage du système peut être visualisé sur la figure 5.21d. Il est composé de 8340 éléments triangulaires.

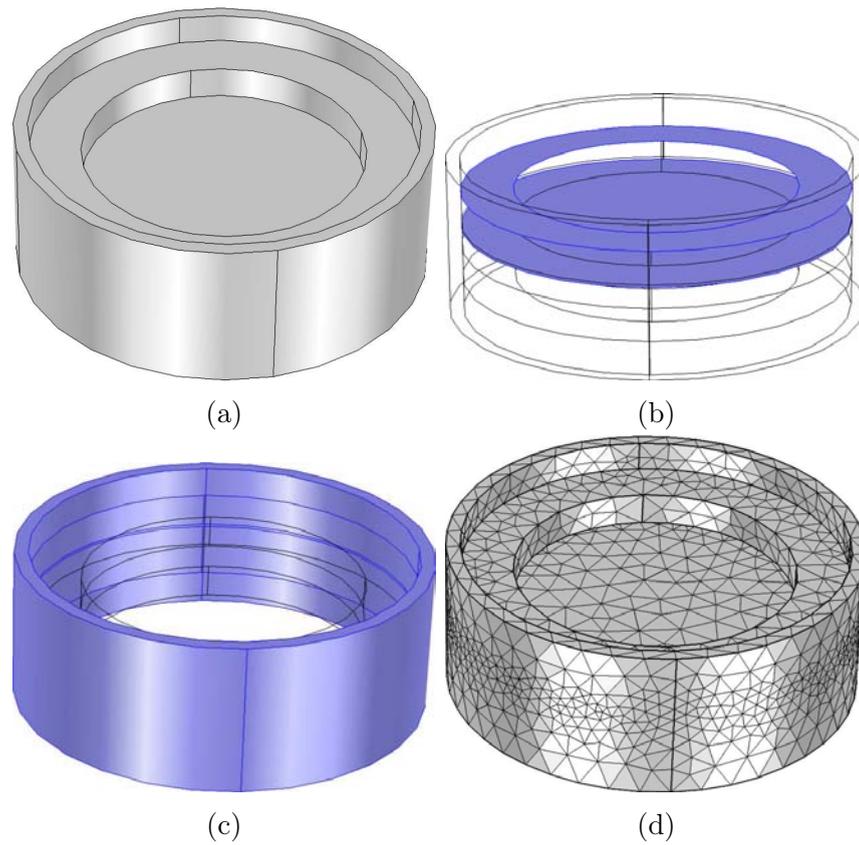


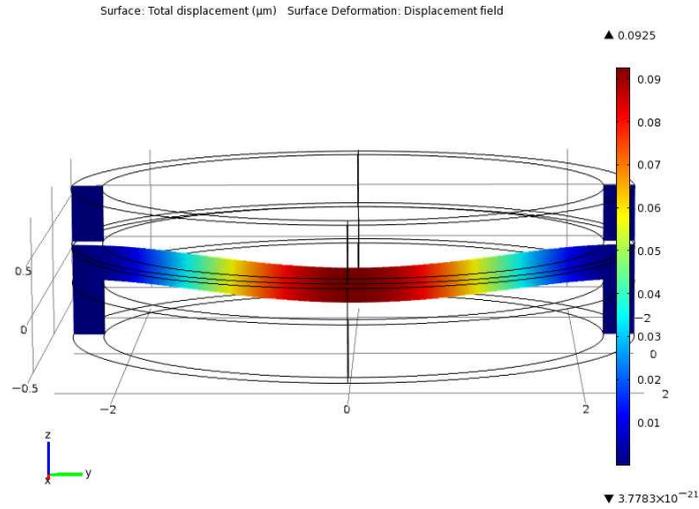
FIGURE 5.21 – Caractéristiques du système modélisé avec COMSOL Multiphysics® : géométrie d’une ponctuation modélisée (a) ; chargement en pression des faces d’une ponctuation modélisée (b) ; contraintes fixes d’une ponctuation modélisée (c) ; maillage d’une ponctuation modélisée (d)

Analyse des résultats

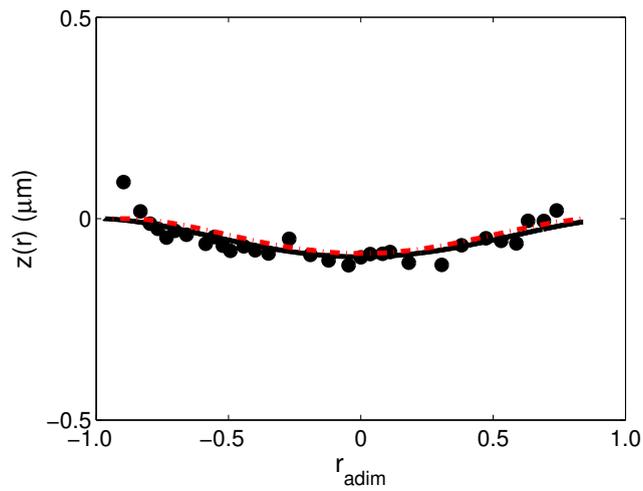
Deux modélisations ont été réalisées à la pression de 0.2 MPa. Dans cette modélisation, les paramètres imposés sont les deux rayons R_{pit} et r de la paroi primaire et secondaire, respectivement. Ces deux rayons ont été mesurés. Le module d'Young radial de la paroi secondaire est aussi imposé et a été mesuré par AFM. Le seul paramètre ajusté est le module d'Young de la paroi primaire. L'ajustement a pour but de faire correspondre modélisations et observations. Les résultats des simulations peuvent être visualisés sur la figure 5.22. La ponctuation sur cette modélisation a un rayon de $R_{pit} = 2.5 \mu\text{m}$. Les parois secondaires ont un rayon de $r = 0.28 \mu\text{m}$.

A partir des simulations, nous avons pu comparer les déformées à celles obtenues par calcul et à partir des micromoulages (Fig. 5.22b). Il y a une bonne correspondance entre la modélisation COMSOL et les points expérimentaux.

Le module d'Young calculé à partir de ces simulations, à $\Delta P = 0.2 \text{ MPa}$, est de $0.41 \pm 0.05 \text{ GPa}$.



(a)



(b)

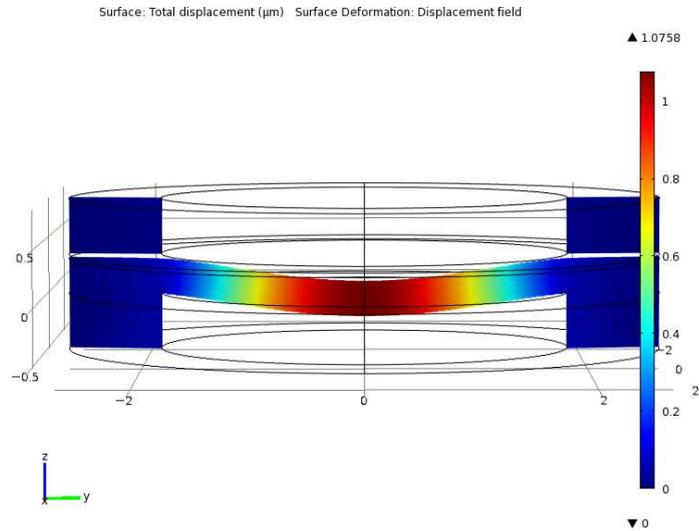
FIGURE 5.22 – Coupe transversale (a) d'une ponctuation $R_{pit} = 2.5 \mu\text{m}$ et $r = 95 \text{ nm}$ modélisée avec COMSOL Multiphysics®. (b) : Déformation de la membrane d'une ponctuation : données expérimentales obtenues en MEB (●) ; modèle (eq. 5.4) (—) ; la simulation par COMSOL Multiphysics® (.-) ($\Delta P = 0.2 \text{ MPa}$).

Neuf modélisations ont été réalisées à $\Delta P = 1.8$ MPa. Les résultats des simulations peuvent être visualisés sur la figure 5.23.

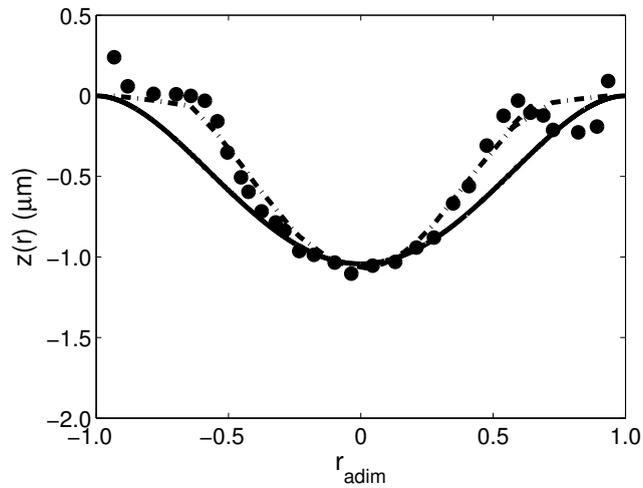
A partir des simulations, nous avons pu comparer les déformations à celles obtenues par calcul et à partir des micromoulages (Fig. 5.23b). Il y a une bonne correspondance entre la modélisation COMSOL et les points expérimentaux. Nous pouvons voir que la modélisation permet de mieux représenter la présence des parois secondaires ainsi que les effets de bord par rapport au modèle théorique. En effet, nous pouvons voir que la membrane commence à se déformer au niveau de l'extrémité de la paroi secondaire.

D'autres exemples de modélisation de membrane déformée peuvent être visualisés sur les figures 5.24 à 5.26.

Le module d'Young moyen utilisé pour les simulations, à $\Delta P = 1.8$ MPa, est de 0.3 ± 0.12 GPa. Ce module est proche de celui que nous avons mesuré en AFM.



(a)



(b)

FIGURE 5.23 – Coupe transversale (a) d’une ponctuation $R_{\text{pit}} = 2.8 \mu\text{m}$ et $r = 90 \text{ nm}$ modélisée avec COMSOL Multiphysics®. (b) : Déformation de la membrane d’une ponctuation : données expérimentales obtenues en MEB (●) ; modèle (eq. 5.4) (—) ; la simulation par COMSOL Multiphysics® (.-) ($\Delta P = 1.8 \text{ MPa}$).

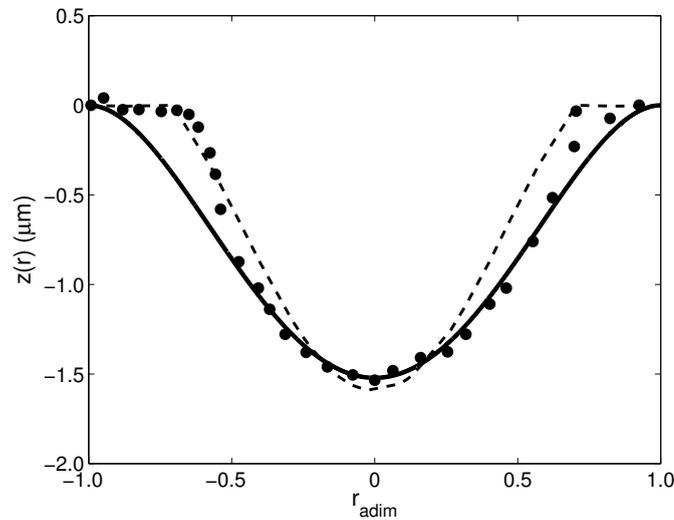


FIGURE 5.24 – Comparaison de la déformation à 1.8 MPa de la membrane d’une ponctuation ($R_{pit} = 2.6 \mu\text{m}$ et $r = 0.78 \mu\text{m}$) entre les données expérimentales obtenues en MEB (\bullet), le modèle théorique ($E = 0.41 \text{ GPa}$) (—) et la simulation par COMSOL Multiphysics® ($E = 0.65 \text{ GPa}$) (-.).

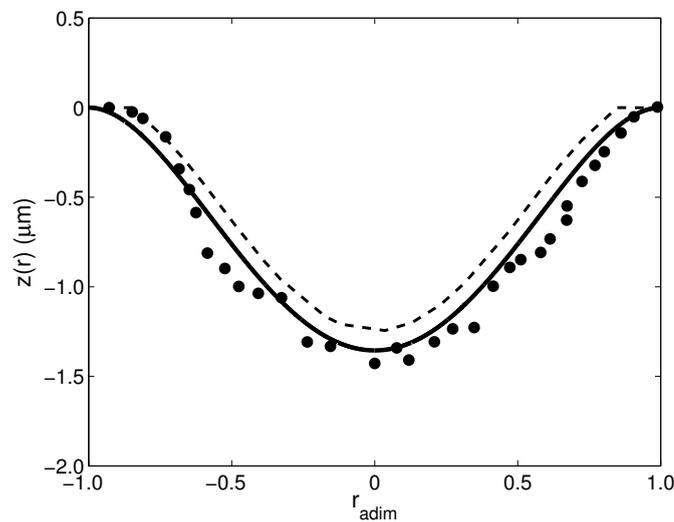


FIGURE 5.25 – Comparaison de la déformation à 1.8 MPa de la membrane d’une ponctuation ($R_{pit} = 2.5 \mu\text{m}$ et $r = 0.39 \mu\text{m}$) entre les données expérimentales obtenues en MEB (\bullet), le modèle théorique ($E = 0.32 \text{ GPa}$) (—) et la simulation par COMSOL Multiphysics® ($E = 0.15 \text{ GPa}$) (-.).

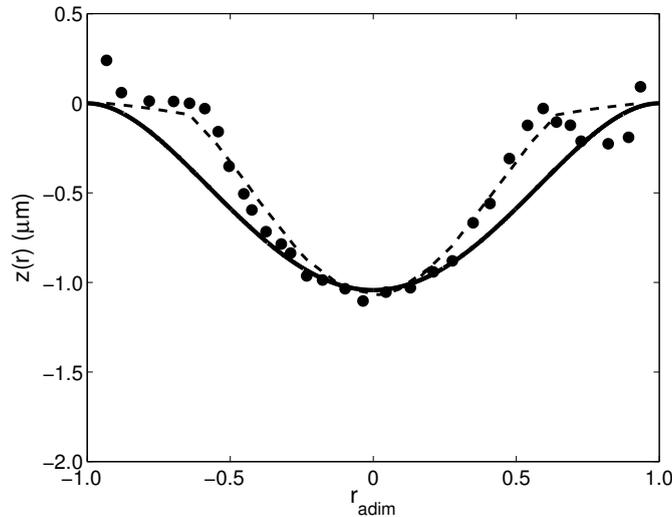


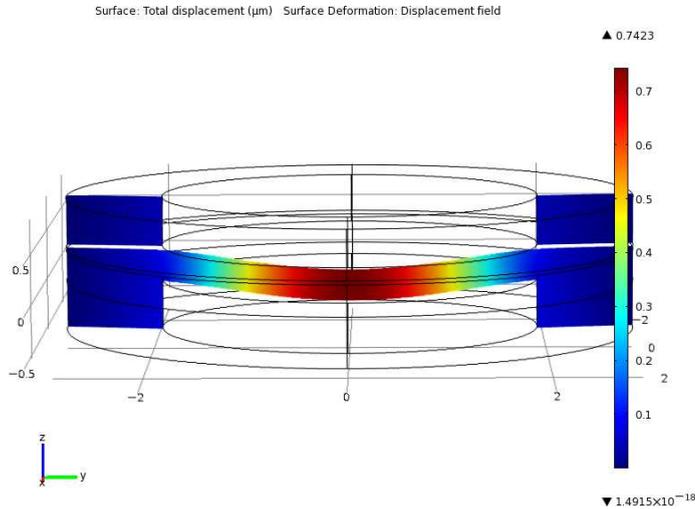
FIGURE 5.26 – Comparaison de la déformation à 1.8 MPa de la membrane d’une ponctuation ($R_{pit} = 2.64 \mu\text{m}$ et $r = 0.82 \mu\text{m}$) entre les données expérimentales obtenues en microscopie optique (\bullet), le modèle théorique ($E = 0.65 \text{ GPa}$) (—) et la simulation par COMSOL Multiphysics® ($E = 0.2 \text{ GPa}$) (-.).

Six modélisations ont été réalisées à $\Delta P = 2.2 \text{ MPa}$. Les résultats des simulations peuvent être visualisés sur la figure 5.27.

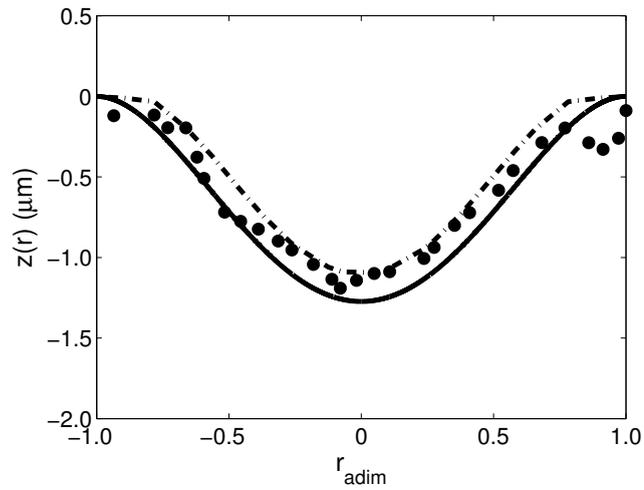
A partir des simulations, nous avons pu comparer les déformations à celles obtenues par calcul et à partir des micromoulages (Fig. 5.27b). Il y a une bonne correspondance entre la modélisation COMSOL et les points expérimentaux. De la même façon que pour les simulations à $\Delta P = 1.8 \text{ MPa}$, nous pouvons voir que la modélisation permet de mieux représenter la présence des parois secondaires que le modèle théorique. En effet, nous pouvons voir que la membrane commence à se déformer au niveau de l’extrémité de la paroi secondaire.

D’autres exemples de modélisation de membranes déformées peuvent être visualisés sur les figures 5.28 à 5.30.

Le module d’Young moyen utilisé pour les simulations, à $\Delta P = 2.2 \text{ MPa}$, est de $0.33 \pm 0.10 \text{ GPa}$.



(a)



(b)

FIGURE 5.27 – Coupe transversale (a) d’une ponctuation ($R_{pit} = 2.9 \mu\text{m}$ et $r = 0.9 \mu\text{m}$) modélisée avec COMSOL Multiphysics®. (b) : Déformation de la membrane d’une ponctuation : données expérimentales obtenues en MEB ($E = 0.7 \text{ GPa}$) (\bullet); modèle (eq. 5.4) (—); la simulation par COMSOL Multiphysics® (—) ($E = 0.3 \text{ GPa}$) ($\Delta P = 2.2 \text{ MPa}$).

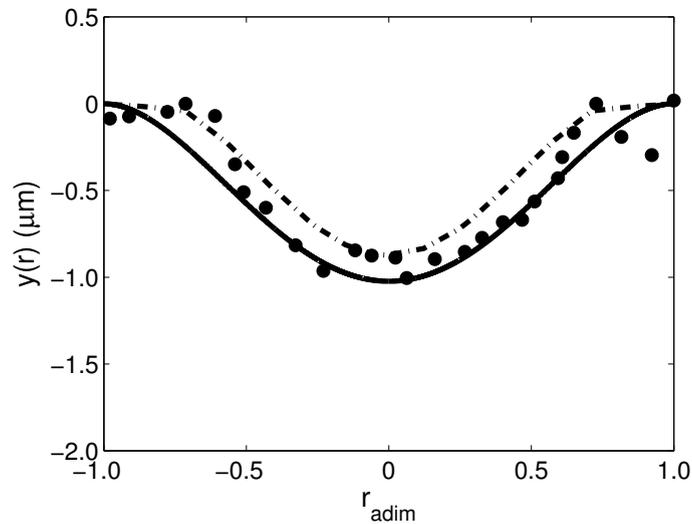


FIGURE 5.28 – Comparaison de la déformation à 2.2 MPa de la membrane d’une ponctuation ($R_{pit} = 2.68 \text{ } \mu\text{m}$ et $r = 0.4 \text{ } \mu\text{m}$) entre les données expérimentales (\bullet), le modèle théorique ($E = 0.65 \text{ GPa}$) (—) et la simulation par COMSOL Multiphysics® ($E = 0.3 \text{ GPa}$) (-.).

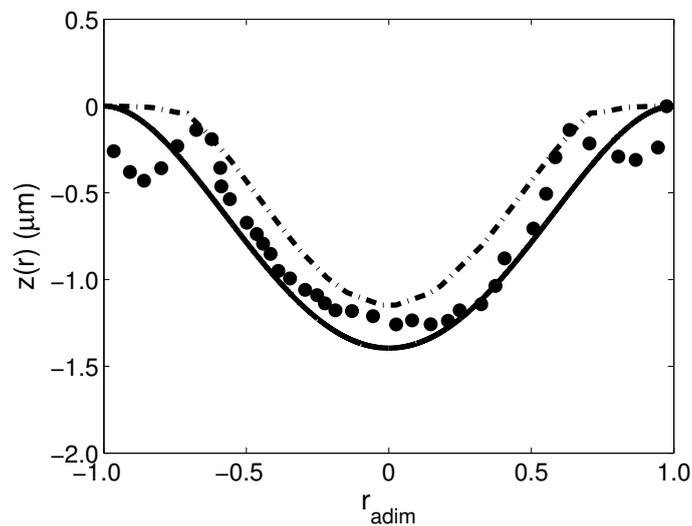


FIGURE 5.29 – Comparaison de la déformation à 2.2 MPa de la membrane d’une ponctuation ($R_{pit} = 2.82 \text{ } \mu\text{m}$ et $r = 0.9 \text{ } \mu\text{m}$) entre les données expérimentales ($E = 0.65 \text{ GPa}$) (\bullet), le modèle théorique (—) et la simulation par COMSOL Multiphysics® ($E = 0.2 \text{ GPa}$) (-.).

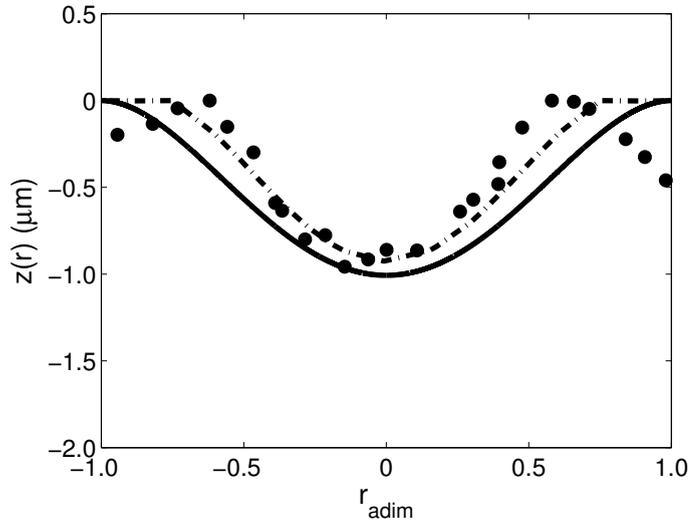


FIGURE 5.30 – Comparaison de la déformation à 2.2 MPa de la membrane d’une ponctuation ($R_{pit} = 2.81 \text{ } \mu\text{m}$ et $r = 0.9 \text{ } \mu\text{m}$) entre les données expérimentales ($E = 0.65 \text{ GPa}$) (\bullet), le modèle théorique (—) et la simulation par COMSOL Multiphysics® ($E = 0.2 \text{ GPa}$) (-.).

5.3 Conclusion

La technique de micromoulage a permis de mesurer de manière expérimentale la déformation des membranes des ponctuations pour trois pressions d’injection différentes : $\Delta P = 0.2 \text{ MPa}$ où la membrane est peu déformée ; $\Delta P = 1.8 \text{ MPa}$ et $\Delta P = 2.2 \text{ MPa}$ où la membrane est très déformée.

Ces filaments de silicone ont été visualisés par microscopies optique et électronique. Les observations en microscopie optique des filaments obtenus à une pression de 0.2 MPa n’étaient pas exploitables mais les observations en MEB ont donné des résultats concluants. Pour les pressions de 1.8 et 2.2 MPa, les deux types d’observation ont donné de bons résultats.

Pour une pression $\Delta P = 0.2 \text{ MPa}$, nous ne pouvons pas voir l’influence des parois secondaires sur la déformation et la rigidité des membranes. La déformation de celles-ci est encore trop faible, ce qui signifie que la membrane déformée ne repose pas sur les parois secondaires. Le module d’Young que nous avons calculé pour le modèle est de 0.41 GPa. Il est proche de la valeur mesurée par microscopie AFM ($E = 0.36 \text{ GPa}$).

A $\Delta P = 1.8$ MPa, nous voyons une bonne correspondance entre modélisation et points expérimentaux. L'étude des images en microscopies optique et électronique donne des résultats équivalents. Le module d'Young moyen qui permet une bonne correspondance entre le modèle théorique et les points expérimentaux est de 0.41 ± 0.13 GPa. Ce module d'Young est du même ordre de grandeur que celui mesuré par AFM. Nous pouvons voir sur les points expérimentaux que la paroi secondaire bloque la membrane au niveau de l'encastrement. Les parois secondaires ont encore peu d'influence sur la rigidité apparente de la membrane. Nous pouvons cependant voir que la déformation est plus forte au centre de la membrane.

Pour finir, à une pression $\Delta P = 2.2$ MPa, l'étude des images en microscopies électronique et optique donne des résultats très proches. Le module d'Young apparent est de 0.66 ± 0.10 GPa. Nous pouvons voir une nette augmentation du module d'Young pour cette dernière pression. Nous voyons que pour de hautes pressions, $\Delta P > 1.8$ MPa, les parois secondaires conduisent à une augmentation du module apparent.

Le récapitulatif des modules d'Young mesurés est résumé dans le tableau 5.1. Le module $E_{apparent}$ correspond au module d'Young utilisé pour le modèle analytique et E_{Comsol} à celui calculé avec COMSOL.

ΔP (MPa)	$E_{apparent}$ (GPa)	E_{Comsol} (GPa)
0.2	0.41 ± 0.15	0.41 ± 0.05
1.8	0.41 ± 0.13	0.33 ± 0.12
2.2	0.66 ± 0.097	0.33 ± 0.10

TABLE 5.1 – Modules d'Young utilisés pour représenter les déformations des membranes.

Pour conclure, le modèle analytique permettant la meilleure représentation de la déformée des membranes primaires est le modèle encasté 5.4. Pour faire correspondre les données expérimentales aux modélisations, il faut augmenter le module d'Young apparent par rapport au module d'Young mesuré par AFM. Cette augmentation permet de tenir compte de l'effet des mâchoires sur la déformée des parois primaires.

L'utilisation du logiciel COMSOL Multiphysics® nous a permis de modéliser plus précisément les ponctuations soumises à une différence de pression obtenues avec les micromoulages. Les modules d'Young apparents calculés à partir de ces simulations sont égaux à ceux mesurés par AFM aux incertitudes expérimentales près. Afin de mieux comprendre le mécanisme de déformation

de la membrane primaire, nous avons fait sa représentation schématique (Fig. 5.31).

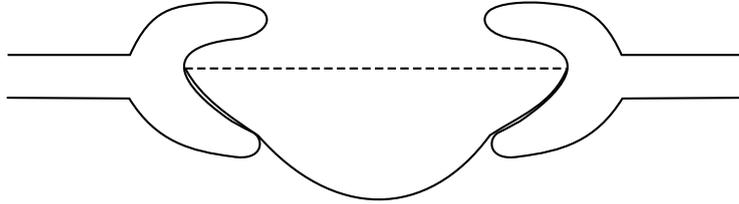


FIGURE 5.31 – Représentation d'une ponctuation déformée par la pression.

Fluidique dans le xylème

Sommaire

6.1	Etude bibliographique	126
6.2	Dynamique de l'imbibition d'une ponctuation	129
6.2.1	Technique d'injection	129
6.2.2	Observations	131
6.3	Perméabilité à l'air	133
6.3.1	Montage expérimental	133
6.3.2	Résultats	135
6.3.3	Modélisation	138
6.4	Conclusion	147

Dans ce chapitre, nous étudions l'écoulement de gaz à travers les cellules du xylème afin d'identifier comment les ponctuations régulent et contrôlent ces écoulements gazeux. Nous tenterons de modéliser les mécanismes de perméation aux gaz en tenant compte de la déformation de la membrane primaire des ponctuations.

Dans un premier temps, nous avons étudié qualitativement l'écoulement d'eau à travers la membrane à des pressions très faibles. Des expériences de microinjection d'eau dans une cellule du xylème ont été réalisées pour cette étude à l'aide d'un microscope optique.

Dans un second temps, nous avons développé des expériences d'injection d'air qui nous ont permis de déterminer la pression critique, ΔP_c , au-delà de laquelle l'écoulement d'air est possible et la longueur des vaisseaux du xylème, L_m . Nous avons aussi étudié la dépendance expérimentale du débit avec la pression d'injection.

Ces différents résultats seront analysés en tenant compte de la présence de pores dans les membranes primaires et de la déformation de ces membranes sous des différences de pressions.

6.1 Etude bibliographique

La connaissance de l'architecture interne du xylème et des ponctuations est un enjeu majeur dans la compréhension des écoulements de sève et de gaz dans les arbres.

La distribution des longueurs des vaisseaux est un paramètre fondamental de la construction hydraulique pour le transport de sève. Des études ont montré qu'il est important de connaître la distribution de la longueur des vaisseaux car le pourcentage des vaisseaux ayant une longueur maximale est faible dans l'ensemble du système vasculaire de la plante [Skene 1968]. La plupart des angiospermes ont des longueurs de vaisseaux comprises entre 0 et 20 cm. Cependant, il existe, dans la nature, quelques rares arbustes ayant des vaisseaux d'une longueur d'environ 1 m [Zimmermann 1981]. Afin de mesurer les longueurs des vaisseaux du bois, il est possible d'utiliser des méthodes de mesure par injection de particules ou des méthodes de mesure de débit d'air à travers le xylème. Des mesures de longueur de vaisseaux ont été rapportées par de nombreux auteurs. L'air, le mercure, l'encre de Chine, etc, ... traversent un segment de branche à faible pression d'injection si le segment contient des vaisseaux ouverts au niveau de ses deux extrémités. La longueur maximale

d'un vaisseau peut être ainsi obtenue [Greenidge 1952]. Zimmermann, et al. ont quant à eux quantifié le débit d'air à travers des segments de branches de liège pour des différentes pressions comprises entre 13.8 kPa et 69.0 kPa afin de mesurer la longueur des vaisseaux et étudier la dépendance du débit à la pression [Zimmermann 1981]. Les vaisseaux des échantillons sont initialement ouverts avec une lame de rasoir dans le but de s'assurer de la pénétration de l'air dans le système vasculaire. Le débit est obtenu par mesure de hauteur d'eau dans un tube à essais. Cette méthode sera utilisée pour nos mesures de longueur de vaisseaux ainsi que pour l'étude de l'évolution du débit d'air en fonction de l'augmentation de la pression d'injection dans le système microfluidique.

Une autre donnée importante caractéristique de l'hydrodynamique du système est la porosité des membranes des ponctuations. En effet, ces ponctuations sont composées d'une membrane a priori poreuse. L'analyse par microscopie de la membrane de ces ponctuations ne suffit pas à la caractérisation des pores. Dans la littérature, nous trouvons des expériences où les propriétés poreuses des ponctuations sont étudiées en injectant des traceurs (colorants, particules calibrées en latex, polystyrène, or, etc...). Lors de ces expériences, on injecte un liquide contenant des traceurs à des pressions faibles. La membrane primaire est donc peu déformée. L'eau circule librement à travers le réseau de xylème alors que les particules sont contraintes à suivre les vaisseaux tortueux. Suivant la taille des particules, elles s'accumulent au niveau de la surface des membranes des ponctuations ou les traversent. Le diamètre des particules passant à travers les ponctuations donne le diamètre maximum des pores non déformés. Shane, et al. se sont intéressés à la porosité des ponctuations reliant les branches aux racines d'une espèce de maïs (*Zea mays L.*) [Zwieniecki 2001a, Shane 2000]. Les membranes des ponctuations reliant racines et vaisseaux de xylème laissent passer des petites particules ayant un diamètre moyen de 4.9 ± 0.7 nm. La porosité de ces ponctuations est beaucoup plus faible que celle mesurée pour d'autres types de ponctuations qui sont compris entre 30 et 300 nm. Ce diamètre faible des pores permet à la membrane de filtrer les microbes et particules entrant par les racines endommagées. Les pores réduisent les interfaces des ménisques air/eau apparaissant lorsque la pression dans les racines du xylème est très élevée.

D'autres expériences ont aussi été menées sur des ponctuations reliant deux cellules de xylème sur des branches d'espèces perdant leurs feuilles pendant les périodes de sécheresse tels que le *Brachychiton australis* et le *Cochlospermum gillivraei* ainsi que sur des espèces sempervirentes qui ont des feuillages persistants tels que le *Alphitonia excelsa* ou le *Austromyrtus bidwillii* [Choat 2003].

L'enjeu de leurs recherches est de comprendre le lien entre la porosité des membranes des ponctuations et la vulnérabilité d'une espèce à l'embolie. Pour cela, la structure de ces membranes a été examinée en particulier la taille des pores. L'observation des ponctuations par MEB n'a donné aucun résultat concernant la distribution de taille des pores. Il est impossible de voir la porosité des membranes par cette technique d'imagerie qui a une résolution maximale de 20 nm.

Pour caractériser la porosité, ils ont utilisé des suspensions de particules colloïdales calibrées d'or qui ont été perfusées dans des sections des branches. Ces expériences indiquent que les pores des membranes des ponctuations ont un diamètre variant entre 5 et 20 nm pour les espèces étudiées. Ils ont prouvé en étudiant différentes espèces d'arbres que la porosité de la membrane des ponctuations est liée à la résistance de l'arbre à l'embolie.

Des expériences d'injection d'air dans les vaisseaux du xylème ont été réalisées dans le but d'étudier l'effet de l'augmentation de la différence de pression sur la porosité des membranes des ponctuations [Choat 2004]. Ces expériences montrent que l'air s'écoule à travers les ponctuations du xylème à partir d'une certaine pression nommée pression critique. A cette pression critique, la membrane est déformée ce qui signifie que les pores sont ouverts. A partir de la loi de Laplace, il est possible d'estimer le diamètre des pores déformés. Ce diamètre est bien plus élevé que pour les expériences d'injection de traceurs et est de l'ordre d'une à plusieurs centaines de nanomètres.

L'étude bibliographique nous permet de conclure que les membranes primaires sont poreuses et peu résistantes à l'eau. Il est important de différencier la taille des pores lorsqu'ils sont fermés ce qui correspond à une membrane non déformée et lorsqu'ils sont ouverts ce qui correspond à une membrane déformée. Cette hypothèse de porosité de la membrane est controversée dans la littérature. En effet, lors de la mise sous tension de la membrane primaire, les pores présents dans la membrane peuvent être bouchés par des substances amorphes présentes sur cette paroi [Lee 2012]. Si les membranes sont poreuses alors le mécanisme de diffusion d'eau et d'air sont passifs d'un point de vue biologique et chimique.

6.2 Dynamique de l'imbibition d'une ponctuation

6.2.1 Technique d'injection

L'objectif de cette partie est d'étudier qualitativement sur le peuplier le passage d'eau à travers les ponctuations à très faible différence de pression. Un dispositif expérimental a été développé dans le but de visualiser sous microscopie optique le passage d'eau à travers le système capillaire du bois (Fig. 6.1). Ces expériences ont été réalisées dans la salle blanche du laboratoire "Centre d'Elaboration de Matériaux et d'Etudes Structurales" (CEMES/CNRS, UPR 8011) où nous avons été accueillis dans le groupe "Nanosciences" (GNS) par Thierry Ondarçuhu.

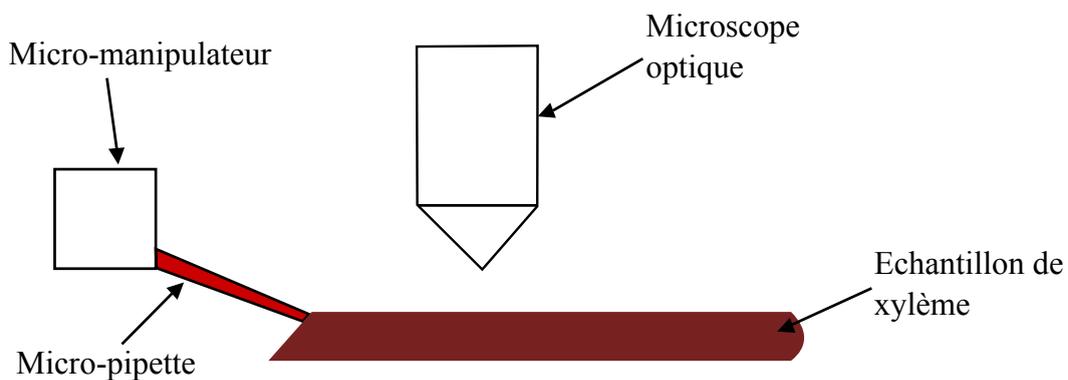


FIGURE 6.1 – Dispositif expérimental des expériences de microinjection d'eau

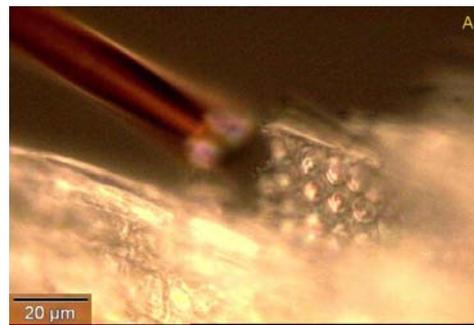
Les expériences d'injection d'eau ont été effectuées sur des échantillons de peuplier provenant de la même campagne de mesure que précédemment. Les échantillons sont coupés avec un microtome à glissière. Les lamelles ont une largeur d'un centimètre, une longueur de trois centimètres et une épaisseur de quelques millimètres. Avant utilisation, elles sont placées dans de l'eau déionisée afin d'être réhydratées. L'extrémité des échantillons est coupée en oblique par rapport à la surface du bois avec une lame de rasoir dans le but d'ouvrir les vaisseaux du xylème et de faciliter l'insertion des micro-pipettes dans ces vaisseaux.

Les pipettes d'injection sont obtenues à partir de tubes capillaires en verre [Crossway 1986]. Nous avons travaillé avec des capillaires en verre ayant un diamètre maximal de $20 \mu\text{m}$ ce qui est inférieur au diamètre des vaisseaux

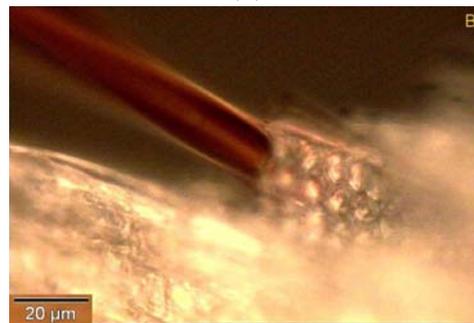
du xylème. La pipette est placée sur un micro-manipulateur autorisant des déplacements suivant les axes x , y et z . A l'aide du micro-manipulateur, la pipette est insérée dans un vaisseau du xylème. L'ensemble du système, micro-pipette et échantillon, est placé sous un microscope optique ayant un grossissement maximal $\times 100$ et un éclairage à fond clair. Le microscope est couplé à une caméra optique.

Le liquide que nous injectons dans le xylème à l'aide d'une micro-pousse seringue est une solution composée d'un mélange d'eau et de glycérine dans la même proportion volumique (50% – 50% en volume). La solution est colorée par de l'éosine pour faciliter la visualisation du mouvement de cette solution à travers les vaisseaux.

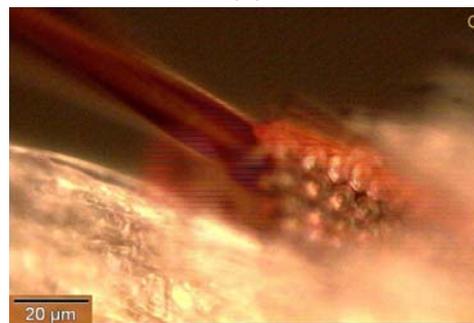
Les étapes de micro-injection sont présentées sur la figure 6.2. Il est à noter que les branches utilisées sont initialement saturées en eau ; les vaisseaux sont remplis d'eau.



(a)



(b)



(c)

FIGURE 6.2 – Technique de micro-injection : Positionnement de la pointe de la micro-pipette proche de la surface de l'échantillon (a) ; Placement de la micro-pipette dans le vaisseau choisi sous la surface de l'échantillon (b) ; Injection de la solution (c) (microscopie optique $\times 50$)

6.2.2 Observations

Nous avons, dans un premier temps, travaillé avec le grossissement $\times 50$ qui nous permet de voir l'écoulement sur une zone assez large ($\approx 100 \mu\text{m}$). Sur la figure 6.3, nous pouvons voir le passage de la solution colorée dans les vaisseaux du xylème. L'interface de l'écoulement est visible sur ces images ; elle est d'un rouge plus foncé. Nous pouvons aussi constater que l'écoulement

de liquide dans les vaisseaux se fait très facilement par capillarité : il n'y a pas besoin d'imposer une pression d'injection élevée pour que l'écoulement se fasse. A partir de ce type d'image, nous avons pu observer que le liquide passe d'un vaisseau à l'autre uniquement par les punctuations. Ainsi, les parois des vaisseaux sont imperméables à l'eau.

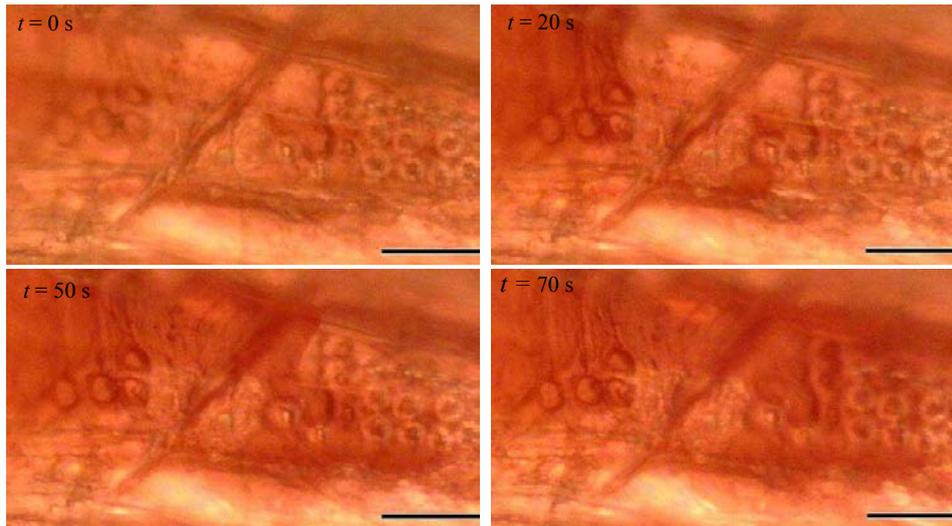


FIGURE 6.3 – Micro-injection d'une solution d'eau et de glycérine dans les mêmes proportions volumiques (50% – 50% en volume) dans les vaisseaux du xylème ; observation en microscopie optique ($\times 50$) ; (barre d'échelle = $20 \mu\text{m}$)

Nous nous sommes, dans un second temps, intéressés à la traversée du liquide à travers une punctuation. Nous avons ici utilisé le microscope avec un grossissement $\times 100$. Nous pouvons voir que le liquide traverse la punctuation par la membrane primaire. Nous pouvons voir l'écoulement à travers une punctuation sur la séquence d'images de la figure 6.4. Nous n'observons pas de temps de latence entre l'injection et l'écoulement à ces faibles pressions.

La vitesse de la sève brute a pu être mesurée à l'aide de colorants ou d'isotopes radioactifs ou encore à l'aide de deux sondes thermoélectriques insérées dans le xylème à des niveaux différents [Canny 1977]. Les angiospermes caractérisés par des veines étroites montrent un pic de vitesse de 1 à 6 m.h^{-1} soit $0,3$ et $1,7 \text{ mm.s}^{-1}$. A partir de la mesure du diamètre des capillaires faite au chapitre 4 ($d_{cap} \approx 20 \mu\text{m}$), le nombre de Reynolds correspondant est compris entre 10^{-3} et 10^{-2} . Ce nombre de Reynolds, faible par rapport à 1 , confirme que l'écoulement est laminaire avec une prédominance des effets visqueux sur les effets inertiels.

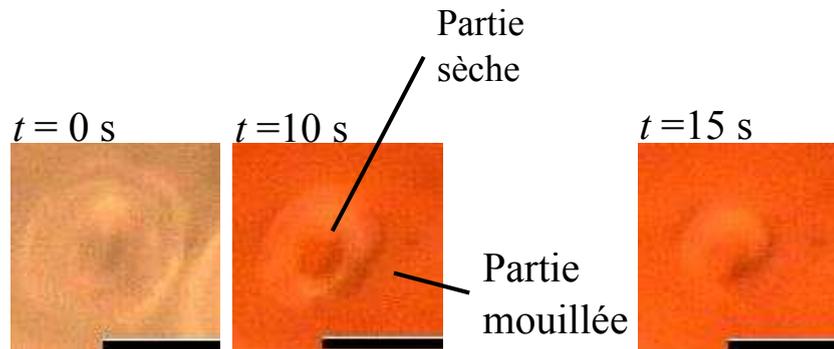


FIGURE 6.4 – Ecoulement d’une solution d’eau et de glycérol (50% – 50% en volume) à travers une ponctuation; observation en microscopie optique ($\times 100$); l’injection se fait sous la ponctuation, l’observation se fait en-dessus (échelle = $5 \mu\text{m}$)

On retrouve les résultats de la littérature où l’écoulement à travers la membrane primaire ne nécessite pas une pression importante. L’écoulement microfluidique observé est spontané et se fait par capillarité dans les vaisseaux.

6.3 Perméabilité à l’air

Les objectifs de cette section sont de caractériser la différence de pression critique, ΔP_c , permettant l’écoulement à travers les ponctuations. A partir de cette pression, nous pourrions calculer le diamètre des pores lorsque la membrane primaire est déformée. Nous mesurerons aussi la longueur des vaisseaux du xylème L_m

Un second objectif est de quantifier et de modéliser l’évolution du débit d’air en fonction de la pression d’injection.

6.3.1 Montage expérimental

Nous avons développé une méthode expérimentale (Fig. 6.5) dans le but de répondre aux objectifs qui ont été énoncés précédemment.

Pour ces expériences, les branches utilisées ont une longueur d’environ 300 mm et un diamètre de 5 mm. Elles proviennent de la même campagne que pour les expériences précédentes. L’écorce est conservée sur les branches. Il est important de noter que l’écorce joue le rôle d’un joint imperméable naturel recouvrant la surface extérieure du cylindre de la branche.

La branche de peuplier est connectée à une bouteille d’air comprimé. L’air

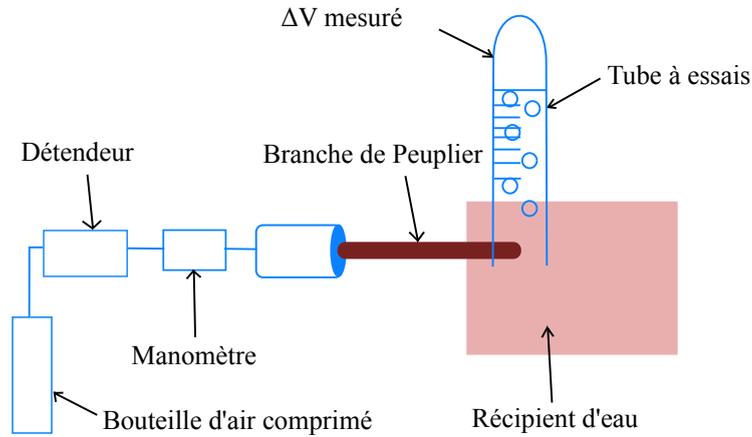


FIGURE 6.5 – Dispositif expérimental des expériences d'injection d'air

comprimé utilisé est de l'ALPHAGAZ 1 AIR Bt-S rob 5/200. Afin de contrôler la pression d'injection, le système est composé de deux détendeurs, le premier se situant à la sortie de la bouteille d'air et le second plus précis se situant au niveau de l'extrémité de la branche. Entre le second détendeur et la branche, nous avons placé un manomètre permettant de contrôler la pression d'injection avec une précision de 50 kPa. Ce système permet de faire varier la différence de pression de l'air entre 0.1 et 3 MPa. Une des extrémités de la branche est reliée au système d'injection par des presse-étoupes assurant l'étanchéité. L'autre extrémité est immergée dans un récipient d'eau. La branche est placée sous un microscope optique dans le but de visualiser l'écoulement d'air au niveau de l'extrémité de la branche à la sortie des vaisseaux de xylème.

Pour la mesure de la différence de pression critique ΔP_c permettant le passage d'un flux d'air à travers le système vasculaire des branches, nous augmentons la pression par paliers jusqu'à observer un écoulement d'air à l'extrémité de la branche. Nous attendons environ 1 h entre chaque palier de 0.5 MPa pour nous assurer que la pression voulue dans le système soit établie. Pour mesurer la longueur critique, L_m , nous utilisons des branches d'une longueur initiale de 30 cm. Nous injectons de l'air comprimé à une pression de 0.2 MPa qui est inférieure à la pression critique dans le système vasculaire. L'air est donc bloqué par les ponctuations et ne traverse pas la branche. La branche est ensuite coupée centimètre par centimètre jusqu'à ce que la barrière de ponctuations soit enlevée et que l'air passe à travers la branche. La taille de la branche au moment où l'air commence à traverser le segment de bois correspond à la longueur critique. Ces mesures ont été réalisées sur 50 branches.

Pour étudier la dépendance en pression du débit d'air, nous déterminons le débit d'air sortant de la branche lors de l'injection d'air comprimé dans la branche en mesurant la hauteur de la colonne d'eau dans un tube à essais calibré. Ce dernier est placé dans un récipient d'eau au-dessus de l'une des extrémités de la branche. Le tube à essais est initialement rempli d'eau; le gaz sortant de la branche remplace l'eau dans le tube. Le volume est mesuré optiquement par lecture directe sur le tube lorsque le bas du ménisque atteint une valeur souhaitée. La précision de mesure est de 0.5 mL. Le débit est donc déterminé à partir d'un volume ΔV transvasé au cours d'un intervalle de temps Δt , d'où

$$Q_m = \rho_g \frac{\Delta V}{\Delta t}, \quad (6.1)$$

en assimilant la densité et la pression dans l'éprouvette aux densité et pression atmosphériques. Le volume mesuré est de 10 mL et le temps pour remplir ce volume de gaz est compris entre 10 et 100 s selon les pressions d'injection.

Il est à noter qu'il faut un certain temps pour que le débit permanent s'établisse. Dans le but de mesurer un débit exact, nous attendons 1h après un changement de pression pour que l'écoulement puisse être considéré comme stationnaire.

Après chaque augmentation de pression, nous vérifions que les barrières de ponctuations ne soient pas endommagées, en vérifiant que nous avons un débit d'air nul pour une pression d'injection de 0.2 MPa pendant 1 heure. Cette pression d'injection est bien inférieure à la pression critique.

Le débit total d'air sortant de la branche, Q_T a été déterminé pour différents ΔP compris entre ΔP_c qui sera déterminé dans un premier temps et 3 MPa. La valeur du débit correspondant à un ΔP donné a été obtenue en moyennant chaque point sur cinq mesures de débit pour douze branches différentes.

6.3.2 Résultats

Les expériences d'injection d'air nous ont permis de mesurer, dans un premier temps, la longueur maximum moyenne des branches : $L_m = 15.0 \pm 0.7$ cm. Cette longueur correspond à la longueur des vaisseaux de xylème du peuplier.

La longueur des branches que nous utilisons pour l'étude de l'évolution du débit est compris entre 25 et 29 cm ce qui est supérieur à la longueur des

vaisseaux. Nous sommes donc sûrs qu'il y a au minimum une barrière de ponctuations actives dans chaque capillaire présent dans la branche.

Dans un premier temps, nous avons mesuré un débit d'air nul jusqu'à une certaine différence de pression, qui est la différence de pression critique, ΔP_c . Pour le peuplier, la pression critique est de $\Delta P_c = 1.80 \pm 0.02$ MPa. Cette valeur de pression critique a été mesurée sur 50 branches.

La différence de pression critique, ΔP_c est une caractéristique de la porosité des ponctuations. Elle est donc une propriété intrinsèque des arbres [Cochard 1992]. Mesurer une pression critique valide l'hypothèse que les membranes primaires des ponctuations sont poreuses. En effet, les ménisques d'eau présents dans les pores de la paroi primaire stoppent le flux d'air jusqu'à la pression critique à laquelle ces ménisques se cassent (Fig. 6.6).

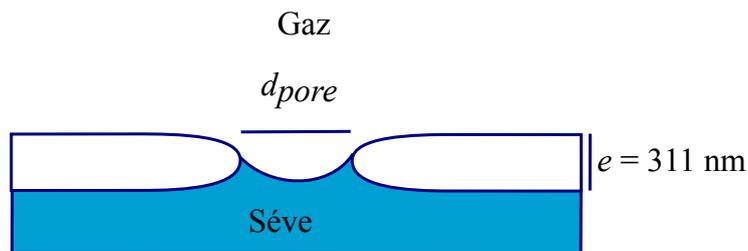


FIGURE 6.6 – Schéma d'un ménisque d'eau dans un pore de la membrane primaire

Le diamètre des pores des ponctuations déformées, d_{pore}^* , peut être calculé à partir de ΔP_c en utilisant l'équation de Laplace :

$$\Delta P_c = \frac{4\gamma \cos\theta}{d_{\text{pore}}^*}, \quad (6.2)$$

où γ est la tension superficielle de l'eau et θ l'angle de contact entre l'interface liquide et la membrane primaire qui est nul dans cette étude, compte tenu des propriétés de la paroi.

Pour $\Delta P_c = 1.8$ MPa, nous calculons un diamètre des pores déformés de : $d_{\text{pore}}^* = 160 \pm 8$ nm.

La mesure de la pression critique peut être mise en relation avec la courbe de vulnérabilité du peuplier (Fig. 6.7).

Sur la courbe de vulnérabilité (Fig. 6.7), nous pouvons voir que la perte de

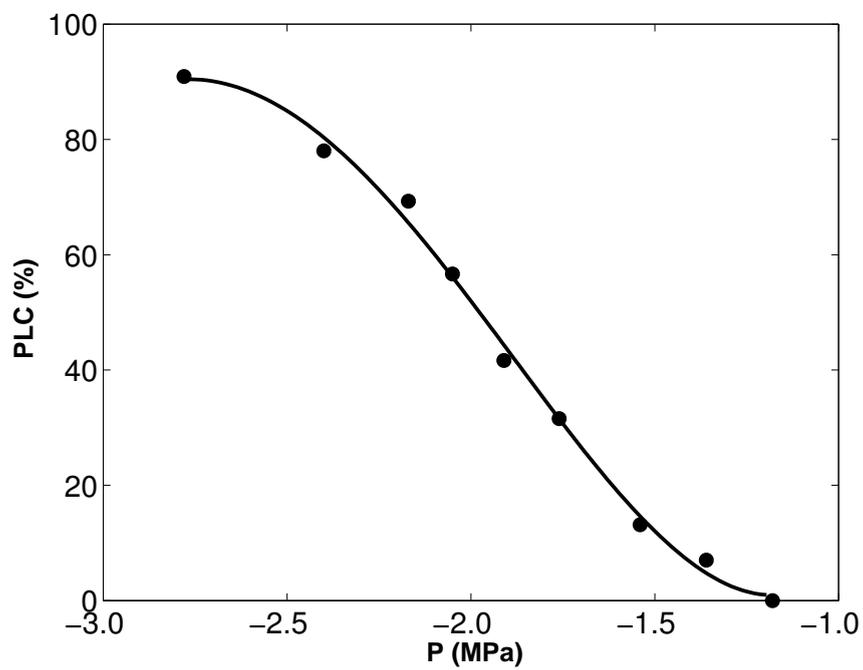


FIGURE 6.7 – Courbe de vulnérabilité du *Populus deltoides* × *Populus nigra* où PLC représente la perte de conductance (chap. 3).

conductivité débute pour une pression de -1.2 MPa. Cette pression correspond à l'apparition de bulles dans le xylème, c'est le début de la cavitation. Les bulles croissent dans les vaisseaux du xylème jusqu'à ΔP_c . Notre valeur de pression critique mesurée correspond sur cette courbe à une perte de conductivité d'environ 50%. Pour une pression supérieure à -2.8 MPa, nous arrivons à une perte de conductivité totale ce qui signifie que la branche est entièrement remplie d'air. L'air a envahi tous les vaisseaux du xylème et a traversé les membranes des ponctuations. Cette pression sera la pression limite d'injection d'air lors des expériences de mesure du débit.

Pour les mesures du débit d'air, nous considérons uniquement le débit sortant de l'extrémité de la branche sans tenir compte de l'air sortant des ramifications. Nous avons pris des branches possédant un minimum de ramifications.

Optiquement, nous pouvons observer que les vaisseaux connectés aux ramifications assurent la majeure partie du débit. Le débit est essentiellement dirigé vers les ramifications et les bourgeons. Nous avons aussi pu voir à la sortie de la branche qu'un très faible nombre de capillaires ($n_{\text{cap}} \approx 10$) est conducteur du flux d'air.

A ΔP_c , le débit Q_T fait un saut de zéro à une valeur proche de $10^{-8} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. La première observation que nous avons pu faire est qu'il faut que $Q_T < 10^{-7} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ pour que les ponctuations ne soient pas endommagées par le flux d'air.

L'évolution du débit d'air Q_T en fonction de la pression pour $\Delta P \geq \Delta P_c$ est présentée sur la figure 6.8. Nous observons que le débit Q_T varie entre $1.29 \pm 0.06 \cdot 10^{-8}$ et $4.78 \pm 0.06 \cdot 10^{-8} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ lorsque ΔP varie entre ΔP_c et 2.8 MPa.

6.3.3 Modélisation

Afin de modéliser ces expériences de perméabilité à l'air, nous considérons le schéma suivant (Fig. 6.9) qui représente deux vaisseaux connectés par une ponctuation. En amont de la membrane primaire, le vaisseau est relié à la bouteille d'air comprimé à la pression, P . En aval de la membrane, le vaisseau débouche à l'air libre à la pression atmosphérique, P_0 . Les pressions d'entrée dans les pores de la membrane et de sortie sont notées P_e et P_s , respectivement.

Dans un premier temps, nous pouvons considérer que la perte de charge est localisée au niveau de la membrane primaire. Compte tenu du grand rap-

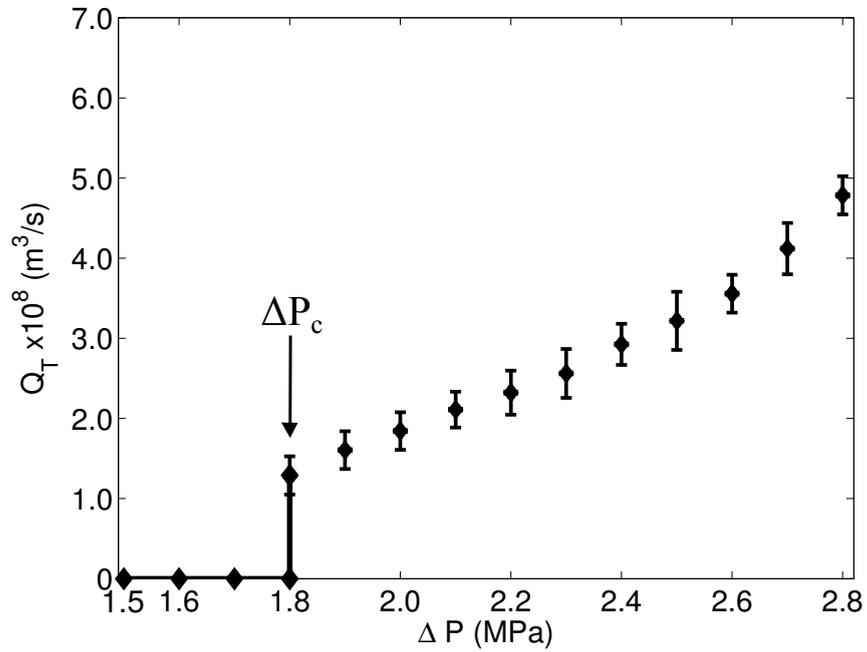


FIGURE 6.8 – Evolution du débit d'air expérimental en fonction de la différence de pression.

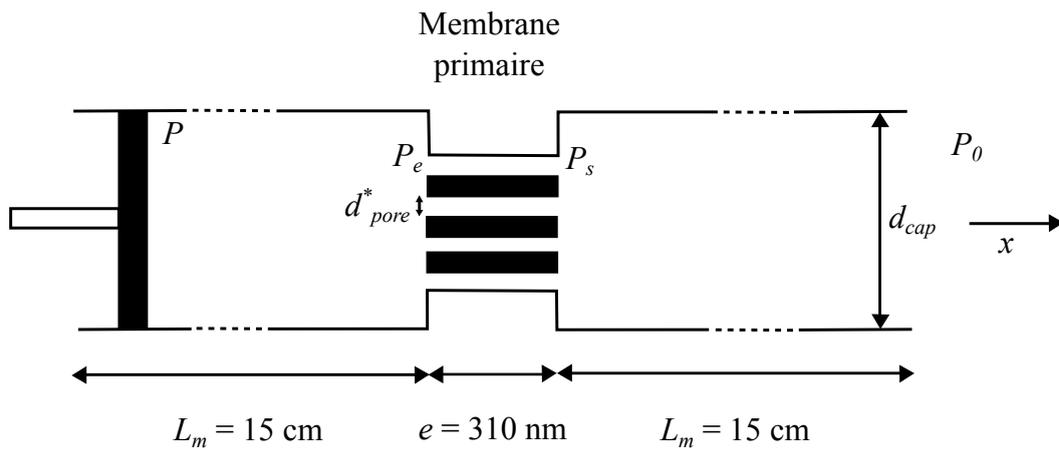


FIGURE 6.9 – Schéma représentatif d'un vaisseau du xylème.

port de section entre un conduit du xylème et un pore d'une ponctuation ($d_{cap}^2 \gg d_{pore}^{*2}$), l'essentiel de la chute de pression est localisée dans les pores, et la pression dans le conduit est donc constante. Une chute de pression significative peut cependant survenir au voisinage de l'entrée des pores où la vitesse augmente fortement.

Après le temps transitoire, la pression est constante. L'écoulement est potentiel en amont et en aval de la membrane. Compte tenu des diamètres des pores et des ponctuations, nous déduisons que la vitesse du gaz u_v est petite devant la vitesse dans le pore u_p ($u_v \ll u_p$) (Fig. 6.10).

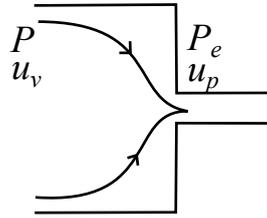


FIGURE 6.10 – Schéma représentatif de l'écoulement de fluide en amont d'un pore.

D'autre part, compte tenu de $rT = c^2/\gamma$, où c est la vitesse du son isentropique et γ le coefficient de Laplace du gaz parfait, nous déduisons que, tant que l'écoulement dans le pore reste subsonique, la chute de pression liée à l'accélération du gaz reste petite devant celle dans le pore. Nous pouvons donc finalement écrire :

$$P \simeq P_e. \quad (6.3)$$

Pour un écoulement d'air, et compte tenu de différences de pression ΔP de l'ordre du méga-Pascal, la compressibilité doit être prise en compte en considérant que l'air est un gaz parfait obéissant à l'équation d'état $P/\rho = rT$ (loi de Boyle-Mariotte) où $r = R/M = 287 \text{ J K}^{-1} \text{ kg}^{-1}$, il vient, pour une évolution isotherme :

$$\frac{P}{\rho^\gamma} = \text{cste}. \quad (6.4)$$

Considérant l'écoulement unidirectionnel d'un gaz dans un tuyau (écoulement suivant x), on peut modéliser l'écoulement soit à partir de la loi de Poisseuille :

$$\Delta P = \frac{128\mu q_m l}{\pi \rho d_{pore}^{*4}}, \quad (6.5)$$

soit à partir de la formule de Landau et Lifshitz [Landau 1959]. Celle-ci est obtenue en considérant que dans chaque petite région du tuyau le gaz peut

être considéré comme incompressible et que l'on peut écrire localement :

$$-\frac{\partial P}{\partial x} = \frac{128\mu q_m}{\pi \rho d_{pore}^4}. \quad (6.6)$$

Aux grandes distances, la masse volumique ρ varie avec la pression qui n'est plus une fonction linéaire de x . En tenant compte de la loi de Boyle-Mariotte citée ci-dessus et pour une évolution isotherme :

$$P_1^2 - P_2^2 = \frac{256\mu q_m}{\pi d_{pore}^{*4}} r T l, \quad (6.7)$$

où q_m est le débit massique.

Pour les capillaires qui participent à l'écoulement du gaz des ponctuations, il est possible de calculer la pression P_S à la sortie de la membrane primaire en considérant que l'extrémité de ces capillaires de longueur l est à la pression atmosphérique P_0 . Les deux équations 6.5 et 6.7 pour $l \simeq L_m$ montrent que cette pression de sortie est voisine et légèrement supérieure à P_0 .

En considérant qu'un pore est une canalisation cylindrique de diamètre d_{pore}^* et de longueur $l \simeq e \simeq 310$ nm, le calcul de la pression de sortie, P_S à partir de l'équation 6.7 est comprise entre 1.2 et 1.7 MPa pour une pression d'injection de 1.8 MPa. Ce calcul a été réalisé pour un nombre de pores compris entre 1 et 300. Le débit massique dans le pore est calculé à partir du débit total mesuré en considérant que le nombre de capillaires qui participent à l'écoulement est de l'ordre de 10 (observé par microscopie optique) et que le nombre de ponctuations par capillaire est de 80 (mesuré optiquement). En revanche, l'utilisation de l'équation de Poiseuille pour l'écoulement dans le pore conduit à une pression de sortie voisine de la pression atmosphérique. Cette analyse nous amène à faire l'hypothèse que l'écoulement du gaz est incompressible dans les pores et devrait obéir à l'équation de Poiseuille (eq. 6.5). Cette hypothèse est physiquement acceptable compte tenu des faibles dimensions de la longueur des pores [Landau 1959]. Dès lors, nous pouvons vérifier que le nombre de Mach est bien inférieur à l'unité ($M \approx 0.6$). Le calcul du nombre de Reynolds Re nous donne une valeur comprise entre 20 et 40. Ce nombre reste élevé pour un écoulement laminaire il est à noter que le fluide est ici en milieu confiné. Dans un second temps, il est possible de modéliser le débit total Q_T en tenant compte du fait que la pression de sortie des pores est voisine de la pression atmosphérique. Ainsi, on peut définir le débit équivalent d'un capillaire Q_{cap} pour lequel la perte de charge est $\Delta P = P - P_0$, P étant la pression d'injection :

$$Q_T = n_{cap} Q_{cap}. \quad (6.8)$$

La perméabilité de la branche est alors définie par l'expression :

$$K = \frac{Q_T \mu L_b}{A \Delta P}, \quad (6.9)$$

où L_b est la longueur de la branche utilisée pour les mesures du débit et A l'aire de la section de cette même branche. Par analogie, Q_{cap} obéit à la loi de Poiseuille. Le nombre de capillaires n_{cap} peut s'écrire en fonction de K :

$$n_{cap} = \frac{128KA}{\pi d_{cap}^4}, \quad (6.10)$$

Cette relation nous donne un nombre de capillaires de l'ordre de 6. Ce nombre est en accord avec celui observé par microscopie optique lors de l'injection. Il est aussi cohérent avec la distribution des capillaires qui a été présentée dans le chapitre 5 qui était du même ordre de grandeur compte tenu des incertitudes sur le coefficient d'atténuation k . Cette faible valeur correspond aux données de la littérature prédisant que le pourcentage des vaisseaux dans un arbre ayant une longueur maximale est faible [Skene 1968]. La perméabilité K à la pression critique ΔP_c calculée est de $1.6 \pm 0.1 \cdot 10^{-15} \text{m}^2$.

L'évolution du débit total Q_T en fonction de la différence de pression ΔP peut être modélisée en considérant que les membranes sont déformables. Dans ces conditions, le diamètre des pores est une fonction de la déformation de la membrane qui est elle-même une fonction de la pression d'injection du gaz. Pour tenir compte de la présence des parois secondaires au niveau des mâchoires, nous avons utilisé l'équation 5.4 pour modéliser la déformation de la membrane. Le débit total Q_T est alors :

$$Q_T = n_{cap} n_{pit} n_{pore} \frac{\pi d_{pore}^{*4} \Delta P}{128 \mu e}. \quad (6.11)$$

Dans cette approche, le module de la membrane est obtenu à partir du calcul du débit Q_T (eq. 6.11) et de celui de la déformation de la membrane (eq. 5.4). Pour cela, nous avons utilisé le logiciel Matlab® et sa méthode de minimisation de l'écart-type. Les résultats sont présentés sur la figure 6.11.

Le module d'Young de la membrane déterminée à partir de cette modélisation est $E \simeq 0.65 \text{ GPa}$. Cette valeur est identique à celle obtenue au chapitre précédent pour l'observation de la déformation des micromoulages. A titre d'illustration, nous présentons sur la figure 6.11 la modélisation du débit en considérant que le diamètre des pores déformés est constant et un troisième modèle en considérant le module caractéristique de la déformation

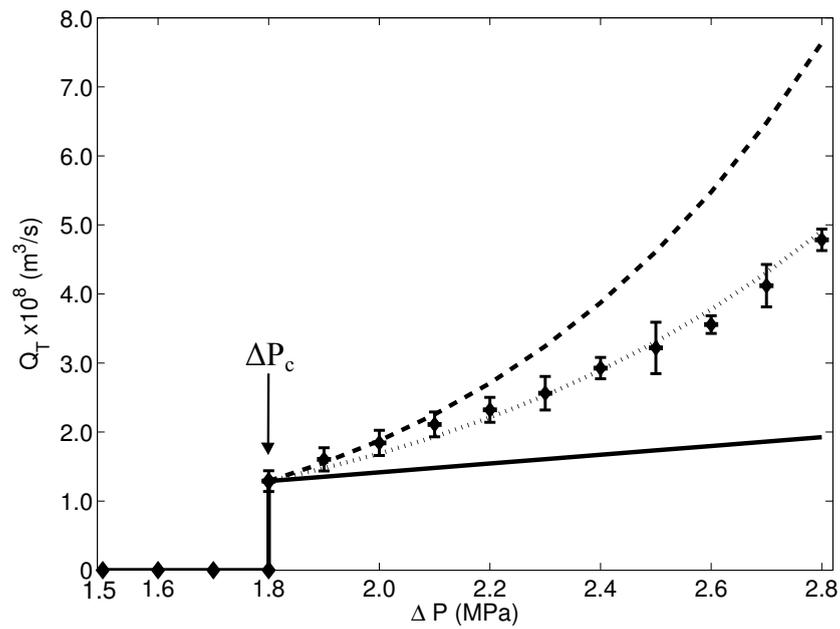


FIGURE 6.11 – Evolution du débit d'air expérimental en fonction de la différence de pression (\blacklozenge). Modélisation du débit avec un nombre de pores de la membrane de la ponctuation constant : (—) les effets de la pression, (- - -) les effets de la pression couplés à la déformation de la membrane ($E = 0.41$ GPa) et (\cdots) les effets de la pression couplés à la déformation de la membrane ($E = 0.65$ GPa).

de la membrane en absence de paroi secondaire ($E = 0.41$ GPa).

L'ensemble de ces résultats nous permettent de calculer le nombre de pores n_{pore} par membrane qui participent à l'écoulement du gaz. Ce nombre est de $n_{pore} = 4 \pm 1$. Afin de valider l'hypothèse d'un écoulement visqueux de Poiseuille au sein des pores, la figure 6.12 présente l'évolution du rapport $Q_T/d_{pore}^4 \Delta P$ en fonction de la différence de pression. Nous observons que ce rapport aux incertitudes expérimentales près et en tenant compte de la variabilité naturelle en structure et en composition des échantillons est constant. Ce rapport peut être calculé à partir des développements théoriques ci-dessus : il est égal à $n_{pit}n_{pore}n_{cap}\pi/(128\mu e) \simeq 9.2 \pm 0.2 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-1}\text{Pa}^{-1}\text{s}^{-1}$.

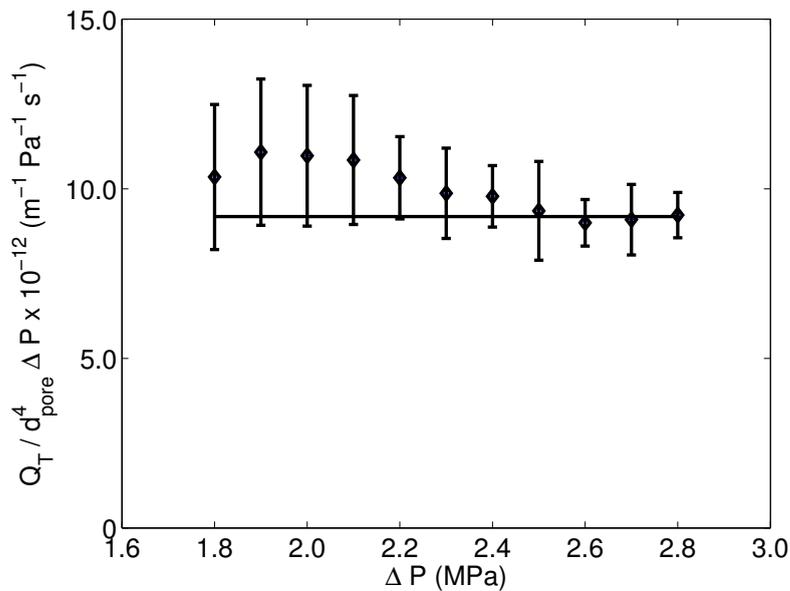
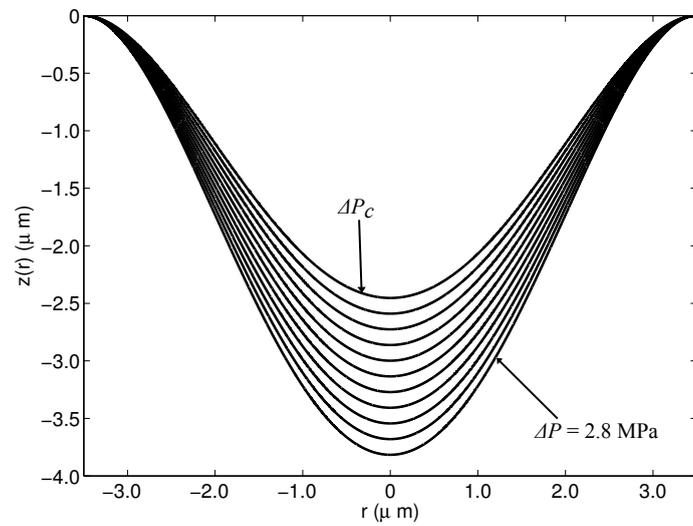
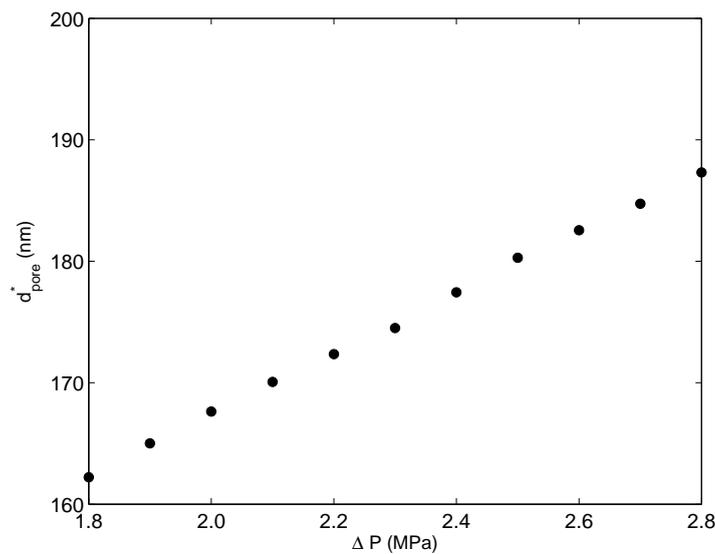


FIGURE 6.12 – Evolution du rapport $Q_T/d_{pore}^4 \Delta P$ en fonction de la différence de pression (\blacklozenge) comparée à la valeur moyenne de ce rapport ($-$).

Pour une pression d'injection comprise entre ΔP_c et 2.8 MPa, la figure 6.13a montre l'évolution de la déformée de la membrane. Parallèlement, sur la figure 6.13b, nous pouvons suivre l'évolution du diamètre des pores déformés d_{pore}^* en fonction de la différence de pression imposée.



(a)



(b)

FIGURE 6.13 – (a) Déformation de la membrane d'une ponctuation pour un module d'Young E de 0.65 GPa et pour des pressions d'injection allant de ΔP_c à $\Delta P = 2.8$ MPa avec une augmentation en pression de 0.1 MPa entre chaque courbe; (b) Evolution du diamètre des pores déformés d_{pore}^* en fonction de la différence de pression imposée.

Les caractéristiques essentielles des ponctuations sont présentées dans le tableau 6.1.

Propriétés des membranes de la ponctuation	
d_{pore} (nm)	49 ± 5
d_{pore}^* (nm)	160 ± 8
e (nm)	310 ± 90
n_{pore}	4 ± 1
$K(\Delta P_c)$ (m ²)	$1.6 \pm 0.1 \cdot 10^{-15}$
E (GPa)	0.41 ± 0.02

TABLE 6.1 – Propriétés des parois primaires des ponctuations : d_{pore} est le diamètre des pores de la membrane lorsqu'elle n'est pas déformée ; d_{pore}^* est le diamètre des pores de la membrane lorsqu'elle est déformée pour $\Delta P_c = 1.8$ MPa mesurée lors des expériences d'injection d'air ; e est l'épaisseur de la membrane des ponctuations ; n_{pore} est le nombre de pores conducteurs sur la membrane de la ponctuation ; $K(\Delta P_c)$ est la perméabilité à l'air de l'échantillon à ΔP_c ; E est le module d'Young de la membrane sèche de la ponctuation.

Toutes ces grandeurs sont des grandeurs moyennes qui intègrent la variabilité structurelle et la composition des vaisseaux du xylème.

À partir d'un état initial où l'air dans le rameau est à la pression atmosphérique, le régime stationnaire décrit plus haut est atteint au bout d'un temps de relaxation τ qu'il est important de déterminer pour valider a posteriori les mesures de débit. Ce temps correspond au temps pour atteindre la pression P dans les conduits de xylème lorsqu'un débit-volume est imposé à l'entrée du rameau. On peut considérer que pendant ce temps, la masse de gaz qui s'échappe par les pores est négligeable devant la masse entrée dans le conduit de xylème, *i.e.* que les pores sont fermés.

Négligeant la variation de pression le long du conduit de xylème, la pression ne dépend que du temps, ainsi que la masse volumique pour une évolution du type $P = P(\rho)$. Ainsi, pour une évolution polytropique $P/\rho^k = Cte$, les variations temporelles de P et ρ sont liées par

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = \frac{\rho}{kP} \frac{\partial P}{\partial t} \quad (6.12)$$

La conservation de la masse dans une petite tranche de conduit s'écrit alors

$$\frac{\rho}{kP} \frac{\partial P}{\partial t} + \rho \frac{\partial u_v}{\partial x} = 0 \quad (6.13)$$

où u_v est la vitesse débitante dans la section. On en déduit, par intégration sur la longueur L_m du conduit, où la vitesse varie de u_v à l'entrée à zéro au bout du rameau :

$$\frac{1}{P} \frac{\partial P}{\partial t} = \frac{k u_v}{L_m}. \quad (6.14)$$

Le temps pour atteindre la pression P est donc

$$\tau = \frac{L}{ku_v} \ln(P/P_0). \quad (6.15)$$

(Au-delà de ce temps, la pression est maintenue constante et la vitesse u_v est contrôlée par le débit au travers des pores.) Pour $P/P_0 = 20$, $k = 1$ (isotherme), $L_m = 150$ mm et $u_v = 1$ cm s⁻¹, il vient $\tau = 50$ s. Le temps que nous avons attendu pour mesurer les débits est supérieur à ce temps de relaxation, τ , d'établissement de la pression.

6.4 Conclusion

Les premières expériences de micro-injection d'eau dans les vaisseaux du xylème nous ont permis de vérifier que les membranes primaires sont perméables à l'eau et que cette perméabilité est due aux effets capillaires.

Pour étudier la propagation du gaz dans l'embolie du peuplier, on a développé des expériences d'injection de gaz sous microscope optique. On en a déduit la pression critique permettant l'écoulement $\Delta P_c \approx 1.8$ MPa, la longueur des vaisseaux du xylème $L_m \approx 15$ cm et on a pu mesurer des débits.

Dans une première approche, on a cherché à modéliser l'évolution du débit en fonction de la pression d'injection. La modélisation repose sur le fait que l'écoulement confiné dans les pores est de type Poiseuille. Cette hypothèse reste à être confirmée. On propose une modélisation basée sur le couplage fluide-structure dans la résistance à l'embolie. On a pris en compte la déformation de la membrane dans cette première modélisation. Cette déformation provoque une augmentation du diamètre des pores augmentant le débit de gaz à travers la membrane. Le module apparent utilisé pour modéliser la déformation de la membrane primaire est de 0.65 GPa ce qui est en accord avec les résultats obtenus au chapitre précédent. De plus, on a calculé un nombre de capillaires conducteurs en accord avec les mesures expérimentales et la modélisation.

CHAPITRE 7

Conclusion

Les arbres irriguent leurs organes par un système microfluidique complexe qui permet le transfert de sève sous des pressions hydrostatiques négatives allant de -0.1 à -13 MPa. Dans ces conditions de métastabilité, les arbres vivent avec le risque d'une vaporisation soudaine de leur sève, qui conduit à l'embolie gazeuse. Les pressions mises en jeu dans les arbres ne permettent pas des phénomènes de cavitation homogène. La cavitation apparaît par des mécanismes hétérogènes au niveau d'impuretés ou de gaz dissous à des pressions plus faibles. Après cavitation, la poche de gaz créée croît par différence de pression et diffuse ensuite dans les vaisseaux du xylème à travers des membranes poreuses appelées "ponctuations". Ces membranes assurent le transfert hydrique vasculaire et luttent contre la propagation de l'embolie gazeuse pouvant conduire à un état létal de la plante.

Pour comprendre les mécanismes d'embolie d'air dans le xylème, nous avons pu étudier la structure des ponctuations du peuplier et caractériser par microscopie à force atomique (AFM) leurs propriétés mécaniques. Nous avons fait des expériences de nano-indentation et de flexion sur des échantillons secs et saturés en eau. Les premières expériences semblent montrer que les propriétés mécaniques sont peu affectées par la sorption d'eau (le module d'Young de la membrane primaire est $E \approx 0.40$ GPa). Nous avons pu établir que le module des ponctuations était inférieur à celui de la paroi des vaisseaux du xylème ($E \approx 8$ GPa). Des micromoulages ont été réalisés sur des vaisseaux de xylème pour différentes pressions d'injection. Ces expériences ont montré que les membranes des ponctuations se déforment sous l'effet d'une différence de pression. La déformée des ponctuations peut être correctement représentée par un modèle analytique de plaque mince encastrée. Pour faire correspondre ce modèle aux déformées expérimentales, le module d'Young apparent doit être augmenté par rapport à celui mesuré par AFM afin de prendre en compte l'effet des parois secondaires. Nous trouvons un module d'Young apparent de l'ordre de 0.65 GPa. Une analyse par éléments finis de la déformation des ponctuations a été réalisée dans le but de déterminer le module d'Young des membranes primaires en présence des parois secondaires. Ce module est identique à celui déterminé en AFM aux incertitudes expérimentales près. Nous

avons pu mettre en évidence que les mâchoires constituées par les parois secondaires limitent la déformation de la membrane au niveau de l'encastrement près du bord.

Des expériences d'injection d'air ont permis de déterminer la longueur des vaisseaux du xylème L_m qui est d'environ 15 cm. L'étude de la distribution de la longueur des vaisseaux nous montre que, pour ces expériences, seul un très faible nombre de vaisseaux atteignent la longueur maximale (L_m), ce qui est en accord avec la littérature. La pression critique au delà de laquelle l'écoulement d'air est possible a été mesurée ($\Delta P_c = 1.8$ MPa). A partir de cette pression, le diamètre critique des pores déformés présents sur les valves capillaires peut être calculé ($d_{pore}^* \approx 160$ nm). La taille des pores estimée est ici aussi cohérente avec les données de la littérature. Nous avons proposé une première modélisation de la propagation d'une embolie sur la base de l'écoulement de Darcy dans la membrane. Ces expériences ont montré que le nombre de pores conducteurs par membrane était voisin de 10. Nous avons aussi pu valider la valeur du module apparent de la membrane lorsque celle-ci se déforme en présence des mâchoires des parois secondaires ($E \approx 0.65$ GPa). Cette modélisation nous indique qu'environ 6 vaisseaux de xylème sont conducteurs ce qui est en accord avec la distribution de la longueur des vaisseaux. Nous observons une cohérence globale au niveau des résultats, en particulier pour l'estimation du module d'Young des membranes primaires et pour le calcul du nombre de vaisseaux conducteurs.

L'ensemble des résultats valide la présence de pores sur les parois primaires des ponctuations et semble montrer que la diffusion de gaz est rendue possible par l'effet conjoint de la déformation de la membrane qui génère l'ouverture des pores diminuant ainsi la pression critique de passage du gaz liée à la rupture des ponts capillaires présents dans les pores de la membrane.

Que reste-il à faire ?

Afin de compléter et de prolonger notre travail, plusieurs pistes peuvent être suivies. Une première perspective serait de valider le modèle utilisé pour comprendre la propagation d'une embolie. Une première approche serait d'effectuer des expériences d'injection d'air identiques à celles présentées à différentes températures du gaz. Ces expériences nous permettraient de confirmer la loi de dépendance du débit par rapport à la pression d'injection. Les hypothèses énoncées pour la modélisation du débit doivent être validées.

Une deuxième perspective serait de réaliser des expériences d'injection d'air à haute pression en utilisant des micro-capillaires. Cette technique nous

permettrait d'injecter de l'air dans un seul vaisseau et de pouvoir suivre optiquement le passage de l'air à travers les ponctuations.

Le faible nombre des pores conducteurs est aussi à vérifier. Il est à noter que toutes les grandeurs calculées sont des grandeurs moyennes si l'on tient compte de la variabilité naturelle des branches des arbres en composition et en structure. De plus, la distribution des pores conducteurs devrait suivre une loi gaussienne provoquant de grandes variabilités dans la répartition des pores sur les membranes primaires.

Afin d'améliorer nos résultats, nous pourrions envisager de mesurer d'autres propriétés mécaniques des parois primaires des ponctuations telles que le coefficient de Poisson et la masse volumique. Ces expériences reposent sur le prélèvement fin de membrane primaire.

Pour finir, nous pourrions affiner la modélisation par éléments finis que nous avons réalisée avec le logiciel COMSOL. Pour cela, nous pourrions mieux tenir compte de la structure des parois secondaires.

En conclusion, ce travail montre qu'il est possible d'étudier de façon reproductible la fluidique des vaisseaux du xylème des arbres. La compréhension de ces microsystemes biologiques peut amener à la création ou au perfectionnement de nouveaux microsystemes synthétiques tels que les MEMS basés sur l'utilisation de valves capillaires.

Bibliographie

- [Aimé 2002a] J.-P. Aimé, R. Boisgard et G. Couturier. *Microscopie de Force Dynamique - Part B : FM-AFM et AM-AFM*. Rapport technique, Nanophysique sur le Matériaux Mous ; CPMOH Université Bordeaux I, 2002. (Cité en page 54.)
- [Aimé 2002b] J.-P. Aimé, R. Boisgard et G. Couturier. *Microscopie de Force Dynamique - Partie A L'Oscillateur AFM : une nanopointe oscillante à proximité d'une surface*. Rapport technique, Nanophysique sur le Matériaux Mous ; CPMOH Université Bordeaux I, 2002. (Cité en page 49.)
- [Amitay-Sadovsky 1998] E. Amitay-Sadovsky et H.-D. Wagner. *Evaluation of Young's modulus of polymers from Knoop microindentation tests*. *Polymer*, vol. 39, pages 2387–2390, 1998. (Cité en page 76.)
- [André 1998] J.P. André. *A study of the vascular organization of Bamboos (Poaceae-Bambuseae) using a microcasting method*. *IAWA Journal*, vol. 19, pages 265–278, 1998. (Cité en page 91.)
- [André 1999] J.P. André, A.M. Catesson et M. Liberman. *Characters and origin of vessels with heterogenous structure in leaf and flower abscission zones*. *Canadian Journal of Botany*, vol. 77, pages 253–261, 1999. (Cité en page 91.)
- [André 2001] J.P. André. *Heterogeneous, branched, zigzag and circular vessels : unexpected but frequent forms of tracheary element files : description, localization, form*. In Savidge R, Barnett J, Napier R (Eds) "Cell and Molecular Biology of Wood Formation" Bios Scientific Publ. Ltd, Oxford, pages 387–395, 2001. (Cité en page 91.)
- [André 2002] J.-P. André. *Organisation vasculaire des angiospermes : une vision nouvelle*. Quae, 2002. (Cité en pages 91 et 94.)
- [Arinero 2005] R. Arinero. *Microscopie à force atomique - II. Le mode contact*. Université de Montpellier II, 2005. (Cité en page 67.)
- [Badel 2012] E. Badel et H. Cochard. *Réunion ANR Pitbulles*. In ANR, Nantes, 2012. (Cité en page 33.)
- [Bauch 1972] J. Bauch, W. Liese et R. Schultze. *The morphological variability of the bordered pit membranes in gymnosperms*. *Wood Science and Technology*, vol. 6, pages 165–184, 1972. (Cité en page 47.)
- [Bhushan 2009] B. Bhushan et H. Fuchs. *Applied scanning probe methods xi, nano science and technology series*. Springer, Berlin, 2009. (Cité en page 66.)

- [Binnig 1986] G. Binnig et C.F. Quate. *Atomic Force Microscope*. Physical Review Letters, vol. 56, pages 930–933, 1986. (Cité en page 49.)
- [Blander 1975] M. Blander et J.L. Katz. *Bubble nucleation in liquids*. AIChE Journal, vol. 21, no. 5, pages 833–848, 1975. (Cité en page 38.)
- [Böhm 1893] J. Böhm. *Capillarität und Saftsteigen*. Ber Dtsch Bot Ges, vol. 11, pages 203–212, 1893. (Cité en page 13.)
- [Bouchet 2012] B. Bouchet, C. Alvarado et A. Fahs. *Réunion ANR Pitbulles*. In ANR, Nantes, 2012. (Cité en pages 8 et 87.)
- [Boyd 2012] E.J. Boyd et D. Uttamchandani. *Measurement of the Anisotropy of Young's Modulus in Single-Crystal Silicon*. Journal of Microelectromechanical Systems, vol. 21, no. 1, pages 243–249, 2012. (Cité en page 76.)
- [Brodersen 2010] C.R. Brodersen, A.J. McElrone, B. Choat, M.A. Matthews et K.A. Shackel. *The dynamics of embolism repair in xylem : in vivo visualizations using high-resolution computed tomography*. Plant Physiology, vol. 154, no. 3, pages 1088–1095, 2010. (Cité en pages 34, 35 et 36.)
- [Butt 2005] Hans-Jürgen Butt, Brunero Cappella et Michael Kappl. *Force measurements with the atomic force microscope : Technique, interpretation and applications*. Surface science reports, vol. 59, no. 1, pages 1–152, 2005. (Cité en page 51.)
- [Bytebier 2009] K. Bytebier, O. Arnould et R. Arinero. *Mechanical characterization of wood viscoelasticity at the submicrometre scale*. In COST FP0802 : workshop on experimental and computational methods in wood micromechanics, Vienna, Austria, 2009. (Cité en page 66.)
- [Canny 1977] M.J. Canny. *Flow and transport in plants*. Ann. Rev. Fluid Mech., vol. 9, pages 275–296, 1977. (Cité en page 132.)
- [Canny 1995] M.J. Canny. *Potassium cycling in Helianthus : ions of the xylem sap and secondary vessel formation*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences, vol. 348, no. 1326, pages 457–469, 1995. (Cité en page 36.)
- [Canny 1997] M.J. Canny. *Vessel contents during transpiration-embolisms and refilling*. American Journal of Botany, vol. 84, no. 9, pages 1223–1223, 1997. (Cité en page 36.)
- [Capella 1999] B. Capella et G. Dietler. *Force-distance curves by atomic force microscopy*. Surface Science Reports Journal, vol. 34, pages 1–104, 1999. (Cité en page 69.)

- [Cheng 2008] Q.Z. Cheng et S.Q. Wang. *A method for testing the elastic modulus of single cellulose fibrils via atomic force microscopy*. *Comp. Part. A.*, vol. 39(12), no. 12, pages 1838–1843, 2008. (Cité en page 66.)
- [Choat 2003] B. Choat, M. Ball, J. Luly et J. Holtum. *Pit Membrane Porosity and Water Stress-Induced Cavitation in Four Co-Existing Dry Rain-forest Tree Species*. *Plant Physiology*, vol. 131, pages 41–48, 2003. (Cité en pages 47 et 127.)
- [Choat 2004] B. Choat, S. Jansen, M.-A. Zwieniecki, E. Smets et N.-M. Holbrook. *Changes in pit membrane porosity due to deflection and stretching : the role of vestured pits*. *Journal of Experimental Botany*, vol. 55, pages 1569–1575, 2004. (Cité en page 128.)
- [Choat 2006] B. Choat, T.W. Brodie, A.R. Cobb, M.A. Zwieniecki et N.M. Holbrook. *Direct measurements of intervessel pit membrane hydraulic resistance in two angiosperm tree species*. *American Journal of Botany*, vol. 93, pages 993–1000, 2006. (Cité en page 46.)
- [Choat 2012] B. Choat, S. Jansen, T.J. Brodribb, H. Cochard, S. Delzon, R. Bhaskar, S.J. Bucci, T.S. Feild, S.M. Gleason, U.G. Hacke et al. *Global convergence in the vulnerability of forests to drought*. *Nature*, vol. 491, 2012. (Cité en pages 29 et 30.)
- [Clair 2003] B. Clair, R. Arinero, G. Lévêque, M. Ramonda et B. Thibaut. *Imaging the mechanical properties of wood cell wall layers by atomic force modulation microscopy*. *IAWA J.*, vol. 24, no. 3, pages 223–230, 2003. (Cité en page 66.)
- [Cochard 1992] H. Cochard, P. Cruiziat et M.-T. Tyree. *Use of positive pressures to establish vulnerability curves*. *Plant Physiology*, vol. 100, pages 205–209, 1992. (Cité en pages 31 et 136.)
- [Cochard 2002] H. Cochard. *A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures*. *Plant, Cell and Environment*, vol. 25, pages 815–819, 2002. (Cité en page 31.)
- [Cohen 2003] S. Cohen, J. Bennink et M. Tyree. *Air method measurements of apple vessel length distributions with improved apparatus and theory*. *Journal of Experimental Botany*, vol. 54(389), pages 1889–1897, 2003. (Cité en page 97.)
- [Crassous 1993] J. Crassous, E. Charlaix, H. Gayvallet et J.-L. Loubet. *Experimental study of a nanometric liquid bridge with a surface force apparatus*. *Langmuir*, vol. 9, pages 1995–1998, 1993. (Cité en page 70.)
- [Crossway 1986] A. Crossway, J.V. Oakes, J.M. Irvine, B. Ward, V.C. Knauf et C.K. Shewmaker. *Integration of foreign DNA following microinjec-*

- tion of tobacco mesophyll protoplasts*. Mol. Gen. Genet., vol. 202, pages 179–185, 1986. (Cité en page 129.)
- [Derjaguin 1975] B.V. Derjaguin, V.M. Muller et Y.P. Toporov. *Effect of contact deformations on the adhesion of particles*. Journal of Colloid and interface science, vol. 53, no. 2, pages 314–326, 1975. (Cité en page 78.)
- [Dixon 1894] H.H. Dixon et J. Joly. *On the ascent of sap*. Proceedings of the Royal Society of London, vol. 57, pages 3–5, 1894. (Cité en page 21.)
- [Dixon 1914] H.H. Dixon. *Transpiration and the ascent of sap in plants*. MacMillan, London, 1914. (Cité en page 13.)
- [Doyle 1985] J. Doyle et J.C.F. Walker. *Indentation hardness of wood*. Wood Fiber Sci., vol. 17, no. 3, pages 369–376, 1985. (Cité en page 66.)
- [Duan 2013] C. Duan, R. Karnik, M.-C. Lu et A. Majumdar. *Evaporation-induced cavitation in nanofluidic channels*. Proc. Natl. Acad. Sci., vol. 109, pages 3688–93, 2013. (Cité en page 22.)
- [Dute 1987] R.R. Dute et A.E. Rushing. *Pit pairs with tori in the wood of Osmanthus americanus (Oleaceae)*. International Association of Wood Anatomists Bulletin, vol. 8, page 237–244, 1987. (Cité en pages 47 et 65.)
- [Dute 2004] R.R. Dute, A.L. Martin et S. Jansen. *Intervascular pit membranes with tori in wood of Planera aquatica*. Journal of the Alabama Academy of Science, vol. 75, pages 7–21, 2004. (Cité en pages 47 et 65.)
- [Dute 2008] R. Dute, L. Hagler et A. Black. *Comparative development of intertracheary pit membranes in Abies firma and Metasequoia glyptostroboides*. International Association of Wood Anatomists Journal, vol. 29, pages 227–289, 2008. (Cité en page 47.)
- [Eastman 1996] T. Eastman et D.M. Zhu. *Adhesion Forces between Surface-Modified AFM Tips and a Mica Surface*. Langmuir, vol. 12, no. 11, pages 2859–2862, 1996. (Cité en page 76.)
- [Eder 2013] M. Eder, O. Arnould, J.W.C. Dunlop, J. Hornatowska et L. Salmén. *Experimental micromechanical characterisation of wood cell walls*. Wood Science and Technology, vol. 47, no. 1, pages 163–182, 2013. (Cité en pages 66 et 81.)
- [Effenhauser 2002] C.S. Effenhauser, H. Harttig et P. Kramer. *An evaporation-based disposable micropump concept for continuous monitoring applications*. Biomedical microdevices, vol. 4, no. 1, pages 27–32, 2002. (Cité en page 22.)

- [Eijkel 2005] J.C.T. Eijkel et A. van den Berg. *Water in micro-and nanofluidic systems described using the water potential*. Lab on a Chip, vol. 5, no. 11, pages 1202–1209, 2005. (Cité en pages 22 et 25.)
- [Eschrich 1972] W. Eschrich, R.F. Evert et J.H. Young. *Solution flow in tubular semipermeable membranes*. Planta, vol. 107, no. 4, pages 279–300, 1972. (Cité en page 21.)
- [Fisher 1981] L. R. Fisher et J. N. Israelachvili. *Experimental studies on the applicability of the Kelvin equation to highly curved concave menisci*. Journal of Colloid and Interface Science, vol. 80, no. 2, pages 528 – 541, 1981. (Cité en page 70.)
- [Fisher 1997] J.B. Fisher, A.A. Guillermo, F.W. Ewers et J.López-Portillo. *Survey of root pressure in tropical vines and woody species*. International journal of plant sciences, pages 44–50, 1997. (Cité en page 34.)
- [Franc 1995] J.-P. Franc, F. Avellan, B. Belahadji, J.Y. Billard, L. Briançon-Marjollet, D. Fréchou, D.-H. Fruman, A. Karimi, J.-L. Kueny et J.-M. Michel. *La cavitation : Mécanismes physiques et aspects industriels*. Presses Universitaires de Grenoble, 1995. (Cité en page 36.)
- [Fujii 1993] T. Fujii. *Application of a resin casting method to wood anatomy of some Japanese Fagaceae species*. IAWA Journal, vol. 14, no. 3, pages 273–288, 1993. (Cité en pages 91 et 92.)
- [Garcia 1999] R. Garcia et A. San Paulo. *Attractive and repulsive tip-sample interaction regimes in tapping-mode atomic force microscopy*. Physical Review B, vol. 60, no. 7, page 4961, 1999. (Cité en page 57.)
- [Goedecke 2002] N. Goedecke, J. Eijkel et A. Manz. *Evaporation driven pumping for chromatography application*. Lab on a Chip, vol. 2, no. 4, pages 219–223, 2002. (Cité en page 22.)
- [Good 2007] B.T. Good, C.N. Bowman et R.H. Davis. *A water-activated pump for portable microfluidic applications*. Journal of colloid and interface science, vol. 305, no. 2, pages 239–249, 2007. (Cité en page 25.)
- [Green 1999] D.-W. Green, J.-E. Winandy et D.E. Kretschmann. *Mechanical properties of wood*. Centennial Edition, 1999. (Cité en pages 109 et 111.)
- [Greenidge 1952] K.N.H. Greenidge. *An approach to the study of vessel length in hardwood species*. Am. J. Bot., vol. 39, pages 570–574, 1952. (Cité en page 127.)
- [Guan 2006] Y.-X. Guan, Z.-R. Xu, J. Dai et Z.-L. Fang. *The use of a micropump based on capillary and evaporation effects in a microfluidic flow injection chemiluminescence system*. Talanta, vol. 68, no. 4, pages 1384–1389, 2006. (Cité en page 22.)

- [Hacke 2003] U.G. Hacke et J.S. Sperry. *Limits to xylem refilling under negative pressure in Laurus nobilis and Acer negundo*. Plant, Cell & Environment, vol. 26, no. 2, pages 303–311, 2003. (Cité en page 36.)
- [Hacke 2006] U.G. Hacke, J.S. Sperry, J.K. Wheeler et L. Castro. *Scaling of angiosperm xylem structure with safety and efficiency*. Tree Physiology, vol. 26, pages 619–701, 2006. (Cité en page 46.)
- [Herbert 2005] E. Herbert et F. Caupin. *The limit of metastability of water under tension : theories and experiments*. Journal of Physics : Condensed Matter, vol. 17, no. 45, pages S3 597–602, 2005. (Cité en pages 29 et 38.)
- [Herbert 2006] E. Herbert, S. Balibar et F. Caupin. *Cavitation pressure in water*. Physical Review E, vol. 74, 2006. (Cité en page 41.)
- [Hertz 1882] H. Hertz. *On the contact of elastic solids*. J. Reine und angewandte Mathematik, vol. 92, 1882. (Cité en page 72.)
- [Holbrook 1999] N.M. Holbrook et M.A. Zwieniecki. *Embolism repair and xylem tension : do we need a miracle ?* Plant Physiology, vol. 120, no. 1, pages 7–10, 1999. (Cité en page 36.)
- [Holbrook 2001] N.M. Holbrook, E.T. Ahrens, M.J. Burns et M.A. Zwieniecki. *In vivo observation of cavitation and embolism repair using magnetic resonance imaging*. Plant Physiology, vol. 126, no. 1, pages 27–31, 2001. (Cité en page 34.)
- [Jaccodine 1963] R.J. Jaccodine. *Surface energy of germanium and silicon*. Journal of the electrochemical society, vol. 110, pages 524–527, 1963. (Cité en page 75.)
- [Jansen 2004] S. Jansen, B. Choat, S. Vinckier, F. Lens, P. Schols et E. Smets. *Intervascular pit membranes with a torus in the wood of Ulmus (Ulmaceae) and related genera*. New Phytologist, vol. 163, pages 51–59, 2004. (Cité en pages 47 et 65.)
- [Jansen 2007] S. Jansen, Y. Sano, B. Choat, D. Rabaey, F. Lens et R. R. Dute. *Pit membranes in tracheary elements of Rosaceae and related families : New records of tori and pseuotori*. American Journal of Botany, vol. 94, pages 503–514, 2007. (Cité en pages 47 et 65.)
- [Jansen 2008] S. Jansen, A. Pletsers et Y. Sano. *The effect of preparation techniques on SEM-imaging of pit membranes*. International Association of Wood Anatomists Journal, vol. 29, pages 160–178, 2008. (Cité en page 47.)
- [Jansen 2009] S. Jansen, B. Choat et A. Pletsers. *Morphological variation of intervessel pit membranes and implications to xylem function in*

- angiosperms*. American Journal of Botany, vol. 96, no. 2, pages 409–419, 2009. (Cité en page 47.)
- [Johnson 1971] K.L. Johnson, K. Kendall et A.D. Roberts. *Surface energy and the contact of elastic solids*. Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences, vol. 324, no. 1558, pages 301–313, 1971. (Cité en page 78.)
- [Juncker 2002] D. Juncker, H. Schmid, U. Drechsler, H. Wolf, M. Wolf, B. Michel, N. de Rooij et E. Delamarche. *Autonomous microfluidic capillary system*. Analytical chemistry, vol. 74, no. 24, pages 6139–6144, 2002. (Cité en page 22.)
- [Kirby 1995a] A.R. Kirby, A.P. Gunning et V.J. Morris. *Imaging xanthan gum by atomic force microscopy*. Carbohydrate Res., vol. 267, pages 161–166, 1995. (Cité en page 48.)
- [Kirby 1995b] A.R. Kirby, A.P. Gunning, V.J. Morris et M.J. Ridout. *Observation of the helical structure of the bacterial polysaccharide acetan by atomic force microscopy*. Biophys. J., vol. 68, pages 360–363, 1995. (Cité en page 48.)
- [Kirby 1996] A.R. Kirby, A.P. Gunning, K.W. Waldron, V.J. Morris et A. Ng. *Visualization of plant cell walls by atomic force microscopy*. Biophys. J., vol. 70, pages 1138–1143, 1996. (Cité en page 48.)
- [Kitin 2001] P. Kitin, Y. Sano et R. Funada. *Analysis of Cambium and Differentiating Vessel Elements in Kalopanax Pictus Using Resin Cast Replicas*. IAWA Journal, vol. 22, no. 1, pages 15–28, 2001. (Cité en pages 91, 93, 94 et 96.)
- [Landau 1959] L.D. Landau et A.M. Lifshitz. Fluid mechanics. Pergamon Press, 1959. (Cité en pages 140 et 141.)
- [Lang 1973] A. Lang. *A working model of a sieve tube*. Journal of Experimental Botany, vol. 24, no. 5, pages 896–904, 1973. (Cité en page 21.)
- [Lecoffre 1994] Y. Lecoffre. La cavitation : traqueurs de bulles. Hermes, 1994. (Cité en page 36.)
- [Lee 2012] J. Lee, N.-M. Holbrook et M.-A. Zwieniecki. *Ion induced changes in the structure of bordered pit membranes*. Plant Science, vol. 3, pages 1–5, 2012. (Cité en pages 31 et 128.)
- [Lewis 1994] A.M. Lewis, V.D. Harnden et M.T. Tyree. *Collapse of water-stress emboli in the tracheids of Thuja occidentalis L.* Plant Physiol., vol. 106, no. 4, pages 1639–1646, 1994. (Cité en page 34.)
- [Marenco 2006] R.A. Marenco, K. Siebke, G.D. Farquhar et M.C. Ball. *Hydraulically based stomatal oscillations and stomatal patchiness in*

- Gossypium hirsutum*. Functional Plant Biology, vol. 33, no. 12, pages 1103–1113, 2006. (Cité en page 28.)
- [Milburn 1966] J.A. Milburn et R.P.C. Johnson. *The conduction of sap*. Planta, vol. 69, no. 1, pages 43–52, 1966. (Cité en page 29.)
- [Moreau 2009] P. Moreau, J. Dehmoune, J.-B. Salmon et J. Leng. *Microevaporators with accumulators for the screening of phase diagrams of aqueous solutions*. Applied Physics Letters, vol. 95, no. 3, 2009. (Cité en page 41.)
- [Münch 1930] E. Münch. Die stoffbewegungen in der pflanze, volume 45. G. Fischer Jena, Germany, 1930. (Cité en page 19.)
- [Nair 2010] S.S. Nair, S.Q. Wang et D.C. Hurley. *Nanoscale characterization of natural fibers and their composites using contact-resonance force microscopy*. Comp. Part. A., vol. 41, no. 5, pages 624–631, 2010. (Cité en page 66.)
- [Nardini 2011] A. Nardini, M.-A. Lo Gullo et S. Salleo. *Refilling embolized xylem conduits : Is it a matter of phloem unloading ?* Plant Science, vol. 180, pages 604–611, 2011. (Cité en page 36.)
- [Nobel 1999] P.S. Nobel. Physicochemical and environmental plant physiology. San Diego : Academic, 1999. (Cité en page 14.)
- [Noblin 2008] X. Noblin, L. Mahadevan, I.A. Coomaraswamy, D.A. Weitz, N.M. Holbrook et M.A. Zwieniecki. *Optimal vein density in artificial and real leaves*. Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 105, no. 27, pages 9140–9144, 2008. (Cité en pages 22 et 41.)
- [Ohtani 1978] J. Ohtani et S. Ishida. *Pit membrane with torus in dicotyledonous woods*. Journal of the Japanese Wood Research Society, vol. 24, pages 673–675, 1978. (Cité en pages 47 et 65.)
- [Okumura 1976] S. Okumura, H. Harada et H. Saiki. *SEM observation of xylem cell walls using resin casting method*. Proc. 26th Ann. Meet. Jap. Wood Res. Soc, vol. 295, 1976. (Cité en page 90.)
- [Palladin 1926] V.I. Palladin, B.E. Livingston et A. Hopping. *Palladin's Plant physiology*. Boston : P. Blakiston's Son & Co., 1926. (Cité en page 21.)
- [Pesacreta 1997] T.C. Pesacreta, L.C. Carlson et B.A. Triplett. *Atomic force microscopy of cotton fiber cell wall surfaces in air and water : Quantitative and qualitative aspects*. Planta, vol. 202, pages 435–442, 1997. (Cité en page 48.)
- [Pesacreta 2005] T.-C. Pesacreta, L.-H. Groom et T.G. Rials. *Atomic force microscopy of the intervessel pit membrane in the stem of Sapium Seiferum (Euphorbiaceae)*. IAWA Journal, vol. 26, no. 4, pages 397–426, 2005. (Cité en pages 31, 47, 48 et 65.)

- [Petty 1969] J. A. Petty et R.D. Preston. *The dimensions and number of pit membranes pores in conifer wood*. Proceedings of the Royal Society, B, Biological Sciences, vol. 172, pages 137–151, 1969. (Cité en page 47.)
- [Pittermann 2005] J. Pittermann, J.S. Sperry, U.G. Hacke, J.K. Wheeler et E.H. Sikkema. *Torus-margo pits help conifers compete with angiosperms*. Science, vol. 310, no. 5756, pages 1924–1924, 2005. (Cité en page 11.)
- [Rief 1997] M. Rief, F. Oesterhelt, B. Heymann et H. Gaub. *Single molecule force spectroscopy on polysaccharides by atomic force microscopy*. Science, vol. 275, pages 1295–1297, 1997. (Cité en page 48.)
- [Round 1997] A.N. Round, A.J. MacDougall, S.G. Ring et V.J. Morris. *Unexpected branching observed in pectin observed by atomic force microscopy*. Carbohydrate Res., vol. 303, pages 251–253, 1997. (Cité en page 48.)
- [Saiki 1975] H. Saiki, T. Sakuno et T. Got. *Scanning electron microscopy of glue lines separated from plywood*. Mokuzai Gakkaishi, vol. 21, pages 283–288, 1975. (Cité en page 90.)
- [Salleo 1989] S. Salleo et M.A. Lo Gullo. *Wylem cavitation in nodes and internodes of Vitis vinifera L. plant subjected to water stress. Limits of restoration of water conduction in cavitated xylem conduits. pp32-42 in, Structural and Functional Responses to Environmental Stress ; ed. Kreeb_KH, Richter_H, Hinckley_TM ; pub, 1989*. (Cité en page 36.)
- [Salleo 1996] S. Salleo, M. Gullo, D. Paoli et M. Zippo. *Xylem recovery from cavitation-induced embolism in young plants of Laurus nobilis : a possible mechanism*. New Phytologist, vol. 132, no. 1, pages 47–56, 1996. (Cité en page 36.)
- [Salleo 2004] S. Salleo, M.A. Lo Gullo, P. Trifilo et A. Nardini. *New evidence for a role of vessel-associated cells and phloem in the rapid xylem refilling of cavitated stems of Laurus nobilis L.* Plant, Cell & Environment, vol. 27, no. 8, pages 1065–1076, 2004. (Cité en page 36.)
- [Salleo 2009] S. Salleo, P. Trifilò, S. Esposito, A. Nardini et M.A.L. Gullo. *Starch-to-sugar conversion in wood parenchyma of field-growing Laurus nobilis plants : a component of the signal pathway for embolism repair ?* Functional Plant Biology, vol. 36, no. 9, pages 815–825, 2009. (Cité en page 36.)
- [Sano 2004] Y. Sano. *Intervascular pitting across the annual ring boundary in Betula platyphylla var. japonica and Fraxinus mandshurica var. japonica*. International Association of Wood Anatomists Journal, vol. 25, pages 129–140, 2004. (Cité en page 46.)

- [Sano 2005] Y. Sano. *Inter- and intraspecific structural variations among intervascular pit membranes as revealed by field-emission scanning electron microscopy*. American Journal of Botany, vol. 92, pages 1077–1084, 2005. (Cité en page 46.)
- [Schmid 1965] R. Schmid. *The fine structure of pits in hardwoods*. Syracuse University Press, Syracuse, New York, USA, 1965. (Cité en pages 47 et 65.)
- [Scholander 1965] P.F. Scholander, E.D. Bradstreet, E.A. Hemmingsen et H.T. Hammel. *Sap pressure in vascular plants : Negative hydrostatic pressure can be measured in plants*. Science, vol. 148, pages 339–346, 1965. (Cité en pages 15 et 18.)
- [Secchi 2010] F. Secchi et M.A. Zwieniecki. *Patterns of PIP gene expression in Populus trichocarpa during recovery from xylem embolism suggest a major role for the PIP1 aquaporin subfamily as moderators of refilling process*. Plant, cell & environment, vol. 33, no. 8, pages 1285–1297, 2010. (Cité en page 36.)
- [Secchi 2011] F. Secchi et M.A. Zwieniecki. *Sensing embolism in xylem vessels : the role of sucrose as a trigger for refilling*. Plant, cell & environment, vol. 34, no. 3, pages 514–524, 2011. (Cité en page 36.)
- [Shane 2000] M.-W. Shane, M.-E. McCully et M.-J. Canny. *Architecture of branch-root junctions in maize : structure of the connecting xylem and the porosity of pit membranes*. Annals of Botany, vol. 85, pages 613–624, 2000. (Cité en pages 47 et 127.)
- [Shevchenko 1998] S.M. Shevchenko, Y.S. Yu, L.G. Akim et G.W. Bailey. *Comparing surface morphology of lignin-carbohydrate complex and humic substances : AFM/OR approach*. Holzforschung, vol. 52, pages 149–156, 1998. (Cité en page 48.)
- [Skene 1968] D.S. Skene et V. Balodis. *A study of vessel length in Eucalyptus obliqua L'Hérit.* J. Exp. Bot., vol. 19, pages 825–830, 1968. (Cité en pages 126 et 142.)
- [Slayter 1967] R.O. Slayter et al. *Plant-water relationships*. Plant-Water Relationships, 1967. (Cité en page 34.)
- [Sperry 2004] J.S. Sperry et U.G. Hacke. *Analysis of circular bordered pit function I. Angiosperm vessels with homogenous pit membranes*. American Journal of Botany, vol. 91, no. 3, pages 369–385, 2004. (Cité en page 10.)
- [Sperry 2005] J.-S. Sperry, U. G. Hacke et J. K. Wheeler. *Comparative analysis of end wall resistivity in xylem conduits*. Plant, Cell and Environment, vol. 28, pages 456–465, 2005. (Cité en pages 95 et 97.)

- [Stone 2004] H.A. Stone, A.D. Stroock et A. Ajdari. *Engineering flows in small devices : microfluidics toward a lab-on-a-chip*. Annu. Rev. Fluid Mech., vol. 36, pages 381–411, 2004. (Cité en page 21.)
- [Stroock 2014] A.D. Stroock, M.A. Zwieniecki et N.M. Holbrook. *The Physicochemical Hydrodynamics of Vascular Plants*. Annual Review of Fluid Mechanics, vol. 46, no. 1, 2014. (Cité en pages 7, 12, 16 et 17.)
- [Tabor 1977] D. Tabor. *Surface forces and surface interactions*. Journal of Colloid and Interface Science, vol. 58, no. 1, pages 2–13, 1977. (Cité en page 78.)
- [Tas 2003] N.R. Tas, P. Mela, T. Kramer, J.W. Berenschot et A. van den Berg. *Capillarity induced negative pressure of water plugs in nanochannels*. Nano Letters, vol. 3, no. 11, pages 1537–1540, 2003. (Cité en page 22.)
- [Thimm 2000] J.C. Thimm, D.J. Burritt, W.A. Ducker et L.D. Melton. *Celery (Apium graveolens L.) parenchyma cell walls examined by atomic force microscopy : effect of dehydration on cellulose microfibrils*. Planta, vol. 212, pages 25–32, 2000. (Cité en page 48.)
- [Thomas 1969] R.J. Thomas. *The ultrastructure of southern pine bordered pit membranes as revealed by specialized drying techniques*. Wood and Fiber, vol. 1, pages 110–123, 1969. (Cité en page 47.)
- [Thut 1928] H.F. Thut. *Demonstrating the lifting power of transpiration*. Ohio J. Sci., vol. 28, pages 292–298, 1928. (Cité en page 21.)
- [Timoshenko 1959] S.P. Timoshenko et S. Woinowsky-Krieger. *Theory of plates and shells*. McGraw-Hill International Editions, 2nd édition, 1959. (Cité en page 109.)
- [Tomasetti 1998] E. Tomasetti, R. Legras et B. Nysten. *Quantitative approach towards the measurement of polypropylene/(ethylene-propylene) copolymer blends surface elastic properties by AFM*. Nanotechnology, vol. 9, no. 4, pages 305–315, 1998. (Cité en page 66.)
- [Tyree 1983] M.T. Tyree et M.A. Dixon. *Cavitation Events in Thuja occidentalis L. ? Ultrasonic Acoustic Emissions from the Sapwood Can Be Measured*. Plant Physiology, vol. 72, no. 4, pages 1094–1099, 1983. (Cité en page 29.)
- [Tyree 1989] M. T. Tyree et J. S. Sperry. *Vulnerability of xylem to cavitation and embolism*. Annu. Rev. Plant Phys. Mol. Bio., vol. 40, pages 19–38, 1989. (Cité en pages 29 et 46.)
- [Tyree 1992] M.T. Tyree et S. Yang. *Hydraulic conductivity recovery versus water pressure in xylem of Acer saccharum*. Plant Physiology, vol. 100, no. 2, pages 669–676, 1992. (Cité en page 34.)

- [Tyree 1999] M.T. Tyree, S. Salleo, A. Nardini, M.A.L. Gullo et R. Mosca. *Refilling of embolized vessels in young stems of laurel. Do we need a new paradigm?* Plant Physiology, vol. 120, no. 1, pages 11–22, 1999. (Cité en page 36.)
- [Tyree 2001] M. T. Tyree et M. H. Zimmermann. Xylem structure and the ascent of sap. Springer Series in Wood Science, 2nd édition, 2001. (Cité en pages 9 et 90.)
- [Velten 2006] T. Velten, H. Schuck, T. Knoll, O. Scholz, A. Schumacher, T. G ttsche, A. Wolff *et al.* *Intelligent intraoral drug delivery microsystem.* Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C : Journal of Mechanical Engineering Science, vol. 220, no. 11, pages 1609–1617, 2006. (Cité en page 25.)
- [Vincent 2012a] O. Vincent. *Dynamique de bulles de cavitation dans de l’eau micro-confinée sous tension - Application à l’étude de l’embolie dans les arbres.* PhD thesis, Université de Grenoble, 2012. (Cité en page 41.)
- [Vincent 2012b] O. Vincent, P. Marmottant, P.A. Quinto-Su et C.-D. Ohl. *Birth and Growth of Cavitation Bubbles within Water under Tension Confined in a Simple Synthetic Tree.* Physical Review Letters, vol. 108, pages 1–5, 2012. (Cité en pages 39 et 41.)
- [Wheeler 1981] E.A. Wheeler. *Intervascular pitting in Fraxinus americana L.* International Association of Wood Anatomists Bulletin, vol. 2, pages 169 – 174, 1981. (Cité en page 47.)
- [Wheeler 1983] E.A. Wheeler. *Intervascular pit membranes in Ulmus and Celtis native to the United States.* International Association of Wood Anatomists Bulletin, vol. 4, pages 79–88, 1983. (Cité en page 47.)
- [Wheeler 2005] J. K. Wheeler, J. S. Sperry, U. G. Hacke et N. Hoang. *Inter-vessel pitting and cavitation in woody Rosaceae and other vesselled plants : a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport.* Plant, Cell and Environment, vol. 28, pages 800–812, 2005. (Cité en pages 46 et 95.)
- [Wheeler 2008] J. K. Wheeler et A.D. Stroock. *The transpiration of water at negative pressures in a synthetic tree.* Nature, vol. 455, pages 208–212, 2008. (Cité en pages 6, 22, 23 et 41.)
- [Wheeler 2009] T.D. Wheeler et A.D. Stroock. *Stability limit of liquid water in metastable equilibrium with subsaturated vapors.* Langmuir, vol. 25, no. 13, pages 7609–7622, 2009. (Cité en pages 38, 40 et 41.)
- [Williams 1980] J.-G. Williams. Stress analysis of polymers. E. Horwood, 1980. (Cité en page 81.)

- [Wimmer 1997] R. Wimmer, B.N. Lucas, T.Y. Tsui et W.C. Oliver. *Longitudinal hardness and Youngs modulus of spruce tracheid secondary walls using nanoindentation technique*. Wood. Sci. Technol., vol. 31, no. 2, pages 31–141, 1997. (Cité en page 66.)
- [Xu 2010] Z.-R. Xu, C.-G. Yang, C.-H. Liu, Z. Zhou, J. Fang et J.-H. Wang. *An osmotic micro-pump integrated on a microfluidic chip for perfusion cell culture*. Talanta, vol. 80, no. 3, pages 1088–1093, 2010. (Cité en page 25.)
- [Zimmermann 1981] M.-H. Zimmermann et A.-A. Jeje. *Vessel-length distribution in stems of some American woody plants*. Canadian Journal of Botany, vol. 59, pages 1882–1892, 1981. (Cité en pages 126 et 127.)
- [Zimmermann 1983] M.-H. Zimmermann. *Xylem structure and the ascent of sap*. Springer-Verlag, 1983. (Cité en page 46.)
- [Zufferey 2011] V. Zufferey, H. Cochard, T. Ameglio, J.-L. Spring et O. Viret. *Diurnal cycles of embolism formation and repair in petioles of grapevine (Vitis vinifera cv. Chasselas)*. Journal of experimental botany, vol. 62, no. 11, pages 3885–3894, 2011. (Cité en page 34.)
- [Zwieniecki 1998] M.A. Zwieniecki et N.M. Holbrook. *Diurnal variation in xylem hydraulic conductivity in white ash (Fraxinus americana L.), red maple (Acer rubrum L.) and red spruce (Picea rubens Sarg.)*. Plant, Cell & Environment, vol. 21, no. 11, pages 1173–1180, 1998. (Cité en page 34.)
- [Zwieniecki 2000] M.-A. Zwieniecki et N.-M. Holbrook. *Bordered pit structure and vessel wall surface properties. Implications for embolism repair*. Plant Physiology, vol. 123, pages 1015–1020, 2000. (Cité en page 34.)
- [Zwieniecki 2001a] M.A. Zwieniecki, P.J. Melcher et N.M. Holbrook. *Hydraulic properties of individual xylem vessels of Fraxinus americana*. J. Exp. Bot., vol. 335, pages 257–264, 2001. (Cité en page 127.)
- [Zwieniecki 2001b] M.A. Zwieniecki, P.J. Melcher et N.M. Holbrook. *Hydrogel control of xylem hydraulic resistance in plants*. Science, vol. 291, pages 1059–1062, 2001. (Cité en page 29.)
- [Zwieniecki 2009] M.A. Zwieniecki et N.M. Holbrook. *Confronting Maxwell's demon : biophysics of xylem embolism repair*. Trends in plant science, vol. 14, no. 10, pages 530–534, 2009. (Cité en page 36.)

Résumé : Les arbres irriguent leurs organes par un système microfluidique complexe qui permet le transfert d'eau sous des pressions hydrostatiques négatives allant de -0.1 à -13 MPa. Les arbres vivent avec le risque d'une vaporisation soudaine de leur sève, conduisant à l'embolie. Après cavitation, la poche de gaz créée croît ensuite par différence de pression et diffuse dans les vaisseaux du xylème à travers des membranes poreuses appelées "ponctuations". Ces membranes assurent le transfert hydrique vasculaire et luttent contre la propagation de l'embolie gazeuse pouvant conduire à un état léthal de la plante. Pour comprendre ces mécanismes, nous avons étudié la structure des ponctuations du peuplier et caractériser par AFM leurs propriétés mécaniques. Nous avons fait des expériences de nano-indentation et de flexion sur des échantillons secs et saturés en eau. Les premières expériences semblent montrer que les propriétés mécaniques sont peu affectées par la sorption d'eau (le module d'Young de la membrane primaire est $E \approx 0.40$ GPa). Nous avons pu établir que le module des ponctuations était inférieur à celui de la paroi vaisseaux du xylème ($E \approx 8$ GPa). Des expériences de micromoulages ont montré que les membranes des ponctuations se déforment sous l'effet d'une différence de pression. En tenant compte de la présence des parois secondaires, l'analyse par éléments finis de la déformation des ponctuations permet de calculer le module d'Young des membranes qui est identique à celui déterminé en AFM. Nous avons pu mettre en évidence que les mâchoires constituées par les parois secondaires limitent la déformation de la membrane au niveau de l'encastrement près du bord. Des expériences d'injection d'air ont permis de déterminer la pression critique ($\Delta P_c = 1.8$ MPa) et les diamètres critiques des pores présents sur les valves capillaires ($d_{pore} \approx 160$ nm). Nous avons proposé une première modélisation de la propagation d'une embolie sur la base de l'écoulement de Darcy dans la membrane. Les résultats semblent montrer que la diffusion de gaz est rendu possible par l'effet conjoint de la déformation de la membrane générant l'ouverture des pores diminuant ainsi la pression critique de passage du gaz et de la rupture des ponts capillaires présents dans les pores de la membrane.

Mots clés : AFM ; Débit d'air ; Embolie ; Propriétés mécaniques ; Ponctuation ; *Peuplier*

Abstract : The xylem vessels of trees constitute a model natural microfluidic system. In this work, we have studied the mechanism of air flow in the *Populus* xylem. The vessel microstructure was characterized by optical microscopy, transmission electronic microscopy (TEM), and atomic force microscopy (AFM) at different length scales. The xylem vessels have length ≈ 15 cm and diameter ≈ 20 μ m. Flow from one vessel to the next occurs through $\sim 10^2$ pits, which are grouped together at the ends of the vessels. The pits contain a thin, porous pit membrane with a thickness of 310 nm. We have measured the Young's moduli of the vessel wall and of the pits (both water-saturated and after drying) by specific nanoindentation and nanoflexion experiments with AFM. We found that both the dried and water-saturated pit membranes have Young's modulus around 0.4 MPa, in agreement with values obtained by micromolding of pits deformed by an applied pressure difference. Air injection experiments reveal that air flows through the xylem vessels when the differential pressure across a sample is larger than a critical value $\Delta P_c \approx 1.8$ MPa. In order to model the air flow rate for $\Delta P \geq \Delta P_c$, we assumed the pit membrane to be a porous medium that is strained by the applied pressure difference. Water menisci in the pit pores play the role of capillary valves, which open at $\Delta P = \Delta P_c$. From the point of view of the plant physiology, this work presents a basic understanding of the physics of bordered pits.

Keywords : AFM ; Air Flow ; Embolism ; Mechanical Properties ; Pit ; *Populus*