

Effet de la durée d'un stress au froid sur l'accumulation de la proline, des sucres solubles et chlorophylles chez les semis du chêne liège (*Quercus suber L.*)

Amina Beldjazia¹, Malika Rached-Kanouni¹, Djamel Alatou¹, Sakr S², Azzedine Hedef.¹

¹Laboratoire de développement et valorisation des ressources phyto-génétique. S. N. V. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Mentouri, Constantine.

²Centre de Recherche INRA, SAGAH-Science Agronomiques appliquées à l'Horticulture. UMR INRA/INH/Université d'Angers, France.

Emails: beldjaziaamina@yahoo.fr, kmalikbio@yahoo.fr, djalatou@yahoo.fr, hadef83@yahoo.fr

Résumé:

L'objectif de notre étude conduite sur le chêne liège (*Quercus suber L.*) consiste à analyser les effets d'un stress thermique (basses températures) sur des semis élevés en conditions contrôlées. Dans notre expérimentation, les variations de la teneur en proline, en sucres solubles et en pigments chlorophylliens sont suivies sur les différents organes (feuilles de la 1^{ère} vague de croissance, feuilles de la 2^{ème} vague de croissance, tiges et racines) au stade repos apparent de la deuxième vague de croissance. Le stress (3 stress successifs) est réalisé à des températures croissantes de -2°C, 0°C, 2°C et 5°C pendant une durée de 3 heures, afin de quantifier le degré d'adaptation des semis par des marqueurs biochimiques (proline, sucres...). Les résultats obtenus montrent une augmentation significative de la proline au niveau des racines à -2°C (1^{er} stress) et des taux importants de sucres solubles au niveau des feuilles de la 1^{ère} vague de croissance à -2°C (3^{ème} stress), alors qu'une diminution est remarquée pour leurs pigments chlorophylliens.

Mots clés : chêne liège, stress au froid, acclimatation, proline, sucres solubles.

Abstract : This study carried out on the cork oak (*Quercus suber L.*) aims to analyse effects of thermal stress (low temperature) oak seedlings grown under controlled conditions. Variation of proline, soluble sugars and chlorophyll pigments contents were surveyed experimentally, during the rest period of the second flush of growth, within different organs (leaves of the first and second flush of growth, stems and roots). The stress (3 successive stresses) is realized with increased temperature of -2°C, 0°C, 2°C and 5°C during 3 hours period, to quantify the seedlings adaptation degree by biochemical markers (proline, sugars...). The results show a significant increase in rate of proline at -2°C (first stress) on one hand; and important rate of soluble sugars in the leaves of the first growth flush at -2°C temperature (third stress), which a decrease of their chlorophyll pigments content is remarked on the other hand

Key words: cork oak, cold stress, acclimatation, proline, soluble sugars.

المخلص: تهدف هذه الدراسة التي أجريت على بلوط الفلين (*Quercus suber L.*) الى تحليل آثار الاجهاد الحراري (درجات الحرارة المنخفضة) على الشتلات التي نبتت في ظروف خاضعة للرقابة. في تجربتنا تم اتباع التغيرات في محتوى البرولين و السكر القابل للذوبان و أصباغ الكلوروفيل في مختلف الأجزاء (اوراق المرحلة الأولى و الثانية من النمو، السيقان و الجذور) و هذا على شتلات في المرحلة الثانية من النمو. الاجهاد (3 للتأكد على التوالي) تحت درجات حرارة من - 2°م، 0°م، 2°م و 5°م لمدة 3 ساعات لقياس درجة تكيف الشتلات انطلاقا من العلامات البيوكيميائية (البرولين و السكريات).

و تظهر النتائج أن هناك زيادة كبيرة من البرولين في الجذور عند - 2°م (الاجهاد الأول) و معدلات عالية من السكريات القابلة للذوبان في أوراق المرحلة الأولى من النمو عند - 2°م (الاجهاد الثالث) و يلاحظ انخفاض لأصباغ الكلوروفيل.

الكلمات الرئيسية: بلوط الفلين ، الإجهاد الباردة ، التأقلم ، السكريات القابلة للذوبان ، البرولين .

Introduction

La forêt algérienne de chêne liège (*Quercus suber L.*) est localisée entre le littoral et une ligne passant approximativement par Tizi-ouzou, Kherrata, Guelma et Souk-Ahras. Elle est également représentée à l'Ouest dans la région de Tlemcen et Mascara (Belabbas, 1991 in Meribai, 2004). Elle occupe une grande superficie (environ 450000 ha).

De par sa valeur industrielle et ses diverses utilisations (agglomérés d'isolation, revêtement, décoration, bouchons et articles divers), le liège constitue un potentiel économique très important.

L'introduction de chêne liège à Constantine nécessite une étude sur les contraintes abiotiques (froid, chaleur, ...). Il compte aujourd'hui parmi les essences forestières les plus employées dans les reboisements. Cependant son implantation n'est pas toujours réussie, vraisemblablement, du choc de transplantation résultant du changement brutal des conditions thermiques accompagnés souvent des conditions hydriques de pépinière à celles des sites de plantations caractérisés souvent par un stress au froid ou de chaleur (Rached-Kanouni et Alatou, 2005).

Le choc de transplantation pourrait être évité grâce à une acclimatation au froid en chambre de culture ou pépinière. Cependant la durée d'une telle acclimatation et son intensité à appliquer n'est pas bien connue. Dans ce cadre que se situe le présent travail dans lequel on s'intéresse à l'étude de l'effet de la durée d'un stress au froid sur certaines manifestations de l'acclimatation chez le chêne liège et par conséquent l'accumulation de certains solutés comme les sucres et la proline.

1. Matériel et méthodes

Les glands sont récoltés de la région de Guelma et El-Kala (Est- algérien) en novembre 2005. La teneur en eau des glands est calculée à partir de 10 glands pour estimer le pouvoir germinatif. La teneur en eau est exprimée en (%) par rapport au poids frais, et elle a été calculée par la formule suivante (Heller, 1989):

$$H\% = \frac{PF - PS}{100} \times 100$$

Les semis de chêne liège sont élevés en condition semi-contrôlées en jours longs de 16 h à une température de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et de lumière de 6000lux à base des plants. Les semis sont transférés ensuite pendant une durée de 9 heures à des températures de 5°C , 2°C , 0°C et -2°C , puis, remis en condition initiales (photo 1).



Photo 1: Conditions d'élevage des plants de chêne-liège

Les analyses biochimiques (proline et sucres solubles) ont été réalisées au niveau des différents organes des semis de chêne liège (feuilles, tiges et racines) au stade repos apparent de la deuxième vague de croissance (soit 70 jours de croissance après la germination).

Le dosage de proline est réalisé par la méthode de Troll et Luidsley (1955), modifiée par Dreier et Corning (1974 ; in Benlaribi, 1990). Les sucres solubles sont dosés par la méthode de Dubois et al. (1956).

La comparaison de l'effet de différents niveaux de température sur la teneur en proline et de sucres solubles chez les différents organes de semis du chêne liège a été effectuée à l'aide de l'analyse de la variance. Les calculs ont été réalisés à l'aide du logiciel (STATITCF).

2. Résultats et discussion

2.1. La teneur en eau

Les résultats obtenus sur la teneur en eau sont consignés dans le tableau 1. Il ressort de ceci que la teneur en eau moyenne est égale à $40.33\% \pm 3.27$. Cette teneur est donc favorable au maintien du pouvoir germinatif.

Un problème difficile à résoudre est celui du maintien de la teneur en eau à un niveau relativement élevé (42-45%) pour conserver le pouvoir germinatif des semences (Bonnet – Massimbert et al., 1977).

Le seuil critique de déshydratation compatible avec le maintien du pouvoir germinatif se situe à 40% pour le chêne liège.

Tableau 1 : Teneur en eau moyenne pour 10 glands de chêne liège

Nombre des glands	Poids frais (g)	Poids sec (g)	Taux d'humidité %
1	7.89	4.37	44.62
2	7.84	4.52	42.34
3	6.24	4.12	33.96
4	7.06	4.30	39.05
5	8.63	4.88	43.42
6	6.77	4.12	39.10
7	6.60	4.05	38.67
8	6.40	3.58	44.09
9	5.64	3.46	38.65
10	5.14	3.12	39.33
Moyenne	6.82	4.05	40.33
Ecart type	1.07	0.53	3.27

2.2. La teneur en proline

Les résultats obtenus montre que la grande teneur en proline est enregistrée au niveau des racines sous une température de -2°C d'un premier stress. La plus faible est observée au niveau des feuilles de la deuxième vague de croissance sous une température de 2°C d'un premier stress (fig. 1).

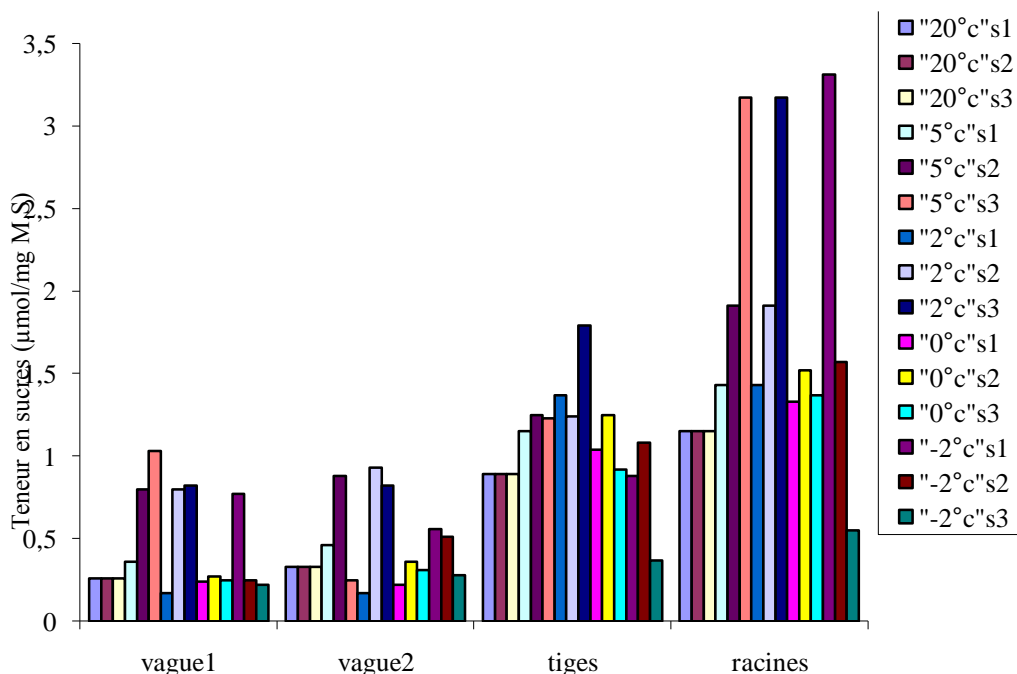


Figure 1: Variations de la teneur en proline au niveau de différents organes de semis du chêne liège en fonction de la température.

La comparaison des moyens révèle l'existence de 5 groupes homogènes où le premier groupe correspond au traitement 2°C avec la moyenne la plus élevée (1.22) et le groupe « D » correspond à 0°C avec une moyenne 0.76 (tab.2)

Tableau 2 : Test Newmen – Keuls à 5%

Températures	Moyennes	Groupes homogènes
2°C	1.22	A
5°C	1.01	B
-2°C	0.86	C
0°C	0.76	D
20°C	0.66	E

On note une teneur faible à 20°C (témoin). Knu et Chen (1986) (in Meribai S., 2004) disent que la teneur en proline est faible dans les conditions normales.

Sous une température de -2°C, la teneur en proline est plus élevée que le témoin. L'augmentation de la proline est considérée comme un excellent marqueur de l'endurcissement au gel chez certains végétaux (Heller, 1989).

Pour les organes, l'analyse statistique révèle l'existence de quatre groupes homogènes (tab.3). Le premier groupe correspond aux racines qui caractérisent la moyenne la plus élevée (1.60) et le dernier groupe comprend les feuilles de la deuxième vague de croissance (0.43).

Tableau 3 : Test de Newmen-Keuls à 5%

Organes	Moyennes	Groupes homogènes
Racines	1.60	A
Tiges	1.08	B
Vague1	0.50	C
Vague2	0.43	D

L'accumulation de la proline se déroule différemment dans les feuilles et les racines (Côme, 1992). Les différences observées entre les organes de la plante résultent sans doute de transfert de cet acide aminé des parties aériennes vers les racines (Côme, 1992), cela explique, la faible accumulation de la proline au niveau des feuilles et la forte accumulation au niveau des racines.

La comparaison des moyennes révèle l'existence de deux groupes homogènes (tab.4) ; le premier comprend les stress 2 et 3 avec une de moyenne (0.92), et le deuxième comprend le premier stress avec une moyenne de (0.87).

Tableau 4 : Test de Newman-Keuls à 5%

Stress	Moyennes	Groupes homogènes
Stress 3	0.92	A
Stress 2		
Stress 1	0.87	B

2.3. La teneur en sucres solubles

La grande teneur en sucres solubles est enregistrée au niveau des feuilles de la première vague de croissance des semis à -2°C (3^{ème} stress) alors que la plus faible est remarquée au niveau des tiges à 5°C (3^{ème} stress) (fig. 2).

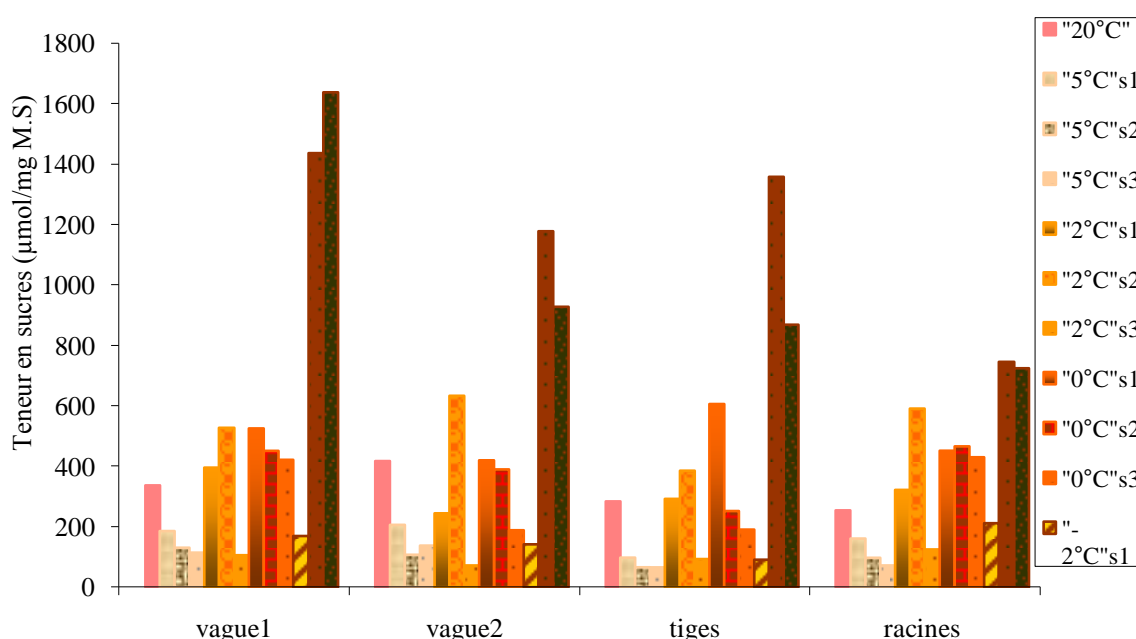


Figure 2 : Variations de la teneur en sucres solubles au niveau des différents organes de semis de chêne liège en fonction de la température.

La comparaison des moyennes révèle l'existence de cinq groupes homogènes (tab.5). Le premier groupe correspond au traitement -2°C avec la moyenne la plus élevée (790.7).

Tableau 5 : Test Newman-Keuls à 5%

Températures	Moyennes	Groupes homogènes
-2°C	790.7	A
0°C	399.42	B
20°C	322.73	C
2°C	315.73	D
5°C	120.25	E

Sous un stress au froid compris entre (5°C et -2°C), les résultats obtenus indiquent que la teneur en sucres solubles la plus élevée est obtenue à -2°C et 0°C alors que la plus faible est enregistrée à 2°C et 5°C. Ce sucre pourrait être négativement relié à la tolérance de la dessiccation induite par le gel en raison de sa participation potentielle dans la réaction de Maillard, qui peut conduire à l'inactivation des protéines et à des modifications au niveau de l'ADN (Koster et al., 1992).

L'analyse statistique révèle l'existence de quatre groupes homogènes (tab.6) ; le premier comprend les feuilles de la première vague de croissance avec la plus forte moyenne (473.87) et le dernier groupe correspond aux racines avec la plus faible moyenne (344.02).

Tableau 6 : Test de Newmen-Keuls à 5%

Organes	Moyennes	Groupes homogènes
Vague1	473.87	A
Vague2	393.07	B
Tiges	348.10	C
Racines	344.02	D

Les racines ne sont pas des tissus importants de stockage. Leur croissance continue et les niveaux bas de l'amidon et du saccharose peuvent indiquer que les racines sont des absorbeurs permanents avec des besoins constants durant la période de croissance en vagues des parties aériennes (Alaoui-Sossé et al., 1994), et cela explique la faible teneur en sucres solubles au niveau des racines stressées.

La teneur en sucres solubles au niveau des feuilles de la première vague de croissance est plus élevée par rapport à celle de la deuxième vague de croissance. Les résultats obtenus par Alaoui-Sossé et al. (1994) sur le chêne commun montrent que la quantité en saccharose des feuilles de la première vague de croissance est supérieure à celle des feuilles de la deuxième vague de croissance.

La comparaison des moyennes révèle l'existence de trois groupes homogènes (tab.7). Le premier groupe comprend le 2^{ème} stress avec la plus forte moyenne (505.35), le second correspond au 3^{ème} stress (373.25), et le dernier au 1^{er} stress (290.70).

Tableau 7 : Test de Newmen-Keuls à 5 %

Stress	Moyennes	Groupes homogènes
Stress2	505.35	A
Stress3	373.25	B
Stress1	290.70	C

2.4. La teneur en chlorophylle

La comparaison de l'effet de différents niveaux de la température sur le taux de chlorophylle a et b au niveau des feuilles (feuilles de deux vagues) de semis du chêne liège indique que la grande quantité de chlorophylle a et b est obtenue à 20°C (témoin) au niveau des feuilles de la première vague de croissance (0.99 ± 0.11 pour la chlorophylle (a) et 0.26 ± 0.06 pour la

chlorophylle (b) tandis que la plus petite teneur en chlorophylle (a) et (b) est enregistrée au niveau des feuilles de la 2^{ème} vague de croissance de semis transférés à -2°C (3^{ème} stress) (0.19 ± 0.07 pour la chlorophylle a et 0.03 ± 0.03 pour la chlorophylle b) (fig. 3).

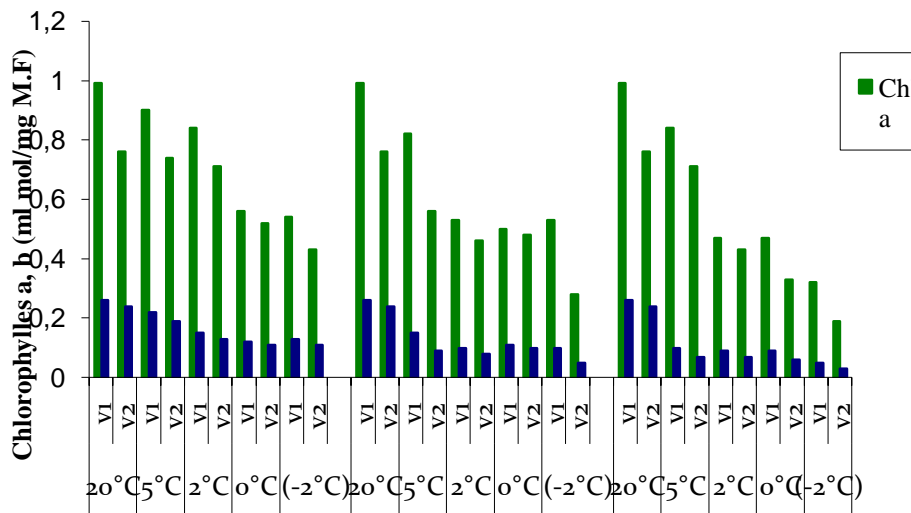


Figure 3 : Variations de taux de chlorophylle (a) et (b) chez les feuilles de semis du chêne liège en fonction de la température de 3 stress.

La photosynthèse est active même lorsque la température de la feuille demeure au voisinage de 0°C, à condition que la plante reçoive un éclairage suffisant.

Quand le froid empêche la photosynthèse, la feuille encore rattachée continue à se déshydrater (Encyclopédie Canadienne, 2006), et cela est en parfait accord avec les résultats obtenus lors de transfert des semis du chêne liège à des températures fraîches (5°C, 2°C, 0°C et -2°C) où une diminution de la quantité de chlorophylle (a) et (b) est observée par rapport à celle soumise dans les conditions normales (témoin).

3. Conclusion

Avec le froid, l'eau gèle. Partout même dans le corps de ceux qui supportent des températures en dessous de 0°C. Alors pour survivre, certaines plantes se sont adaptées à ces conditions défavorables. Ils ont accumulé des substances antigel telles que des protéines spéciales, des sucres solubles et des acides aminés.

Dans les conditions normales (témoin 20°C), l'accumulation de la proline et de sucres solubles est faible au niveau de différents organes de semis du chêne liège.

Sous un stress au froid compris entre (5°C et -2°C), l'accumulation de sucres solubles est plus élevée dans les feuilles de la 1^{ère} vague de croissance à -2°C (3^{ème} stress), alors que l'augmentation de la proline est très significative dans les racines des semis transférés durant 3h (1^{er} stress). La concentration de ces métabolites au niveau des différents organes montre la capacité des semis du chêne liège à l'endurcissement durant la période hivernale (Rached-Kanouni et Alatou, 2005). La tolérance du chêne liège semble se situer à la limite de -2°C (un stress de 9h à -2°C est néfaste pour les semis du chêne liège).

L'exposition des feuilles de semis du chêne liège au froid (5°C, 2°C, 0°C et -2°C) montre qu'il y a une diminution de taux de chlorophylles (a) et (b) par rapport au témoin (20°C ± 2°C). Plus la durée de stress augmente plus le taux de chlorophylle (a et b) diminue.

Références bibliographiques

Alaoui-Sossé B., Cielec Parmentier, Pierre Dizengremel and Paul Barnola, 1994- Rhythmic growth and carbon allocation in *Quercus robur*. Starch and sucrose. Plant physiol. Biochem. 32 (3), 331-339.

Benlaribi, 1990- Adaptation au déficit hydrique chez le blé dur: étude des caractères morphologiques et physiologique. Thèse de doctorat d'Etat. ISN. Univ. Constantine. P164.

Côme D., 1992- Les végétaux et le froid. 600p.

Heller.R. avec la collaboration de R. Esnault Clance, 1989- Physiologie végétale. T1. Nutrition.

Koster, K. L. and D. V. Lynch. 1992- Solute accumulation and compartmentation during the cold acclimation of Puna rye. Plant physiol. 98: 108-113.

Meribai S., 2004- Evolution de la proline et des chlorophylles des semis de chêne liège (*Quercus suber* L.) soumis à des températures extrêmes. Mémoire d'ingénieur d'état Univ. Constantine. P49.

Rached-Kanouni M. & Alatou D., 2005- Evolution des sucres solubles dans des feuilles des semis de chêne liège (*Quercus suber* L.). Le comité scientifique du 1^{er} Colloque Euro-Méditerranéen en Biologie Végétale et Environnement, p. 30-31.