

LES VARIATIONS THERMIQUES SAISONNIERS ET LEURS IMPACTS SUR LE COMPORTEMENT ÉCOPHYSIOLOGIQUES DES SEMIS DE PIN D’ALEP

Ahmed Laala
Malika Rached-Kanouni
Djamel Alatou

Laboratoire de développement et valorisation des ressources phyto-génétiques. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département d’Ecologie et Biologie. Université Mentouri, route d’Aïn-El-Bey, Constantine 25000, Algérie

Abstract

In Algeria, the pine forests are concentrated mainly in arid and semi arid regions where the climatic conditions severely limit the production potential seriously, thus the mechanism of tolerance is the most effective strategy in situations of severe and prolonged stress. In this context, our study is to determine specifically the effect of seasonal temperature variations on Aleppo pine seedlings from biochemical markers such as the synthesis of proline, soluble sugars and chlorophyll. The results reveal a very significant accumulation of proline in aerial parts than in root during the summer and winter. Thus the accumulation of various osmolytes show that Aleppo pine stands as the most species-rich carbohydrates in winter and less rich in summer. Parallel to the accumulation of these solutes, a gradual decline of chlorophyll pigment content was recorded in winter and summer. In conclusion, the study reveals the thermophilic Aleppo pine and also shows that the solutes accumulated mark well the thermal limit of this species.

Keywords: Pine, thermal stress, tolerance, proline, soluble sugars, chlorophyll

Résumé

En Algérie, les pinèdes se concentrent principalement dans les zones arides et semi arides là où les conditions climatiques limitent sérieusement le potentiel de production, le mécanisme de tolérance s’avère la stratégie la plus efficace dans les situations de stress sévère et prolongé. Dans cette

optique, notre étude consiste à déterminer particulièrement l'effet des fluctuations thermiques saisonnières et l'adaptation des semis de pin d'Alep à partir des marqueurs biochimiques tels que la synthèse de la proline, des sucres solubles et de la chlorophylle. Les résultats obtenus montrent une accumulation très significative de la proline dans les organes aériens que racinaires durant la saison estivale et hivernale. Ainsi l'accumulation des différents osmolytes montre que le pin d'Alep se présente comme l'espèce la plus riche en hydrates de carbone en hiver et la moins pourvue en été. Parallèlement à l'accumulation de ces deux solutés, une baisse progressive de la teneur en pigments chlorophyllienne a été enregistrée en hiver et en été. En conclusion, l'étude révèle le caractère thermophile de pin d'Alep et montre que les solutés accumulés marquent bien la limite thermique de cette espèce.

Mots clefs : Pin d'Alep, stress thermique, tolérance, proline, sucres solubles, chlorophylle

Introduction

Au cours des cent dernières années, la température moyenne à la surface de la terre a augmenté d'environ 0.74 °C, donc le réchauffement du système climatique est sans équivoque (Rego, 2006 in Rached-Kanouni et al., 2012). La température est l'un des principaux facteurs écologiques primordiaux qui détermine pour une large part la distribution des végétaux et peut conditionner leurs productivités. A l'échelle de la plante, la température va influencer plusieurs paramètres tels que la photosynthèse, les réactions métaboliques, la phénologie, les mouvements des solutés, le fonctionnement des biomembranes...etc.

La variabilité et les extrêmes des températures enregistrées dans l'Est-Algérien ont provoqué une dégradation des écosystèmes forestiers et des changements des aires de distribution biogéographiques de ces derniers. Devant une telle situation, il est important de comprendre les mécanismes de tolérance des essences forestières aux fluctuations thermiques saisonniers.

En réponse au stress thermique, beaucoup d'espèces simulent des changements significatifs sur le plan morphologique et métabolique. Le pin d'Alep, essence forestière par excellence dans notre pays, avec une amplitude écologique très vaste, demeure importante par sa production ligneuse ; néanmoins avec les perturbations climatiques actuelles, l'espèce subit des stress importants qui influent négativement sur sa production ligneuse.

Le but de notre travail est de mettre en évidence les fluctuations thermiques et les périodes stressantes enregistrées dans la région de Sétif (Est-Algérien) et de caractériser la réponse écophysio-logique des semis de

pin d'Alep aux variations thermiques saisonnières par la quantification des marqueurs biochimiques tels que la synthèse de la proline, des sucres solubles et de la chlorophylle.

Matériel et méthodes

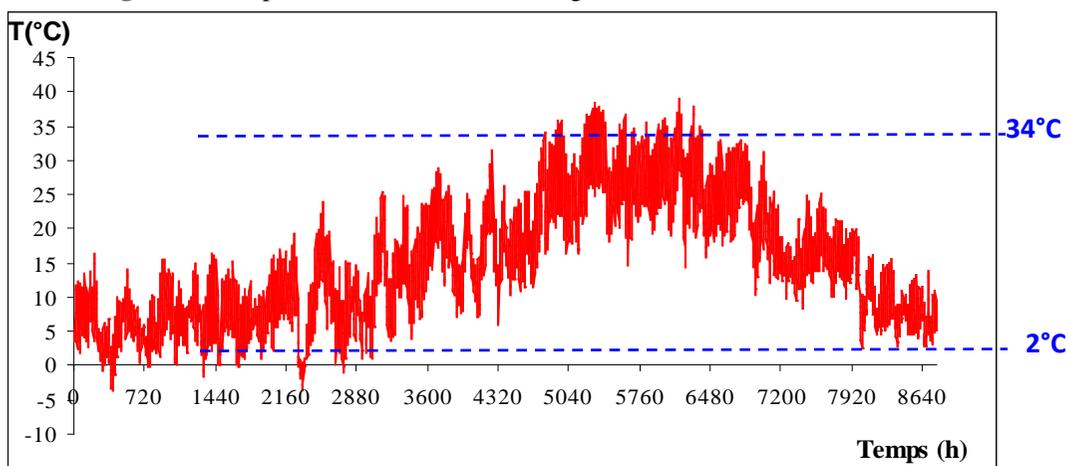
Présentation de la zone d'étude

Cette expérimentation est conduite dans la pépinière de Sétif, région qui se situe au Sud-Est par rapport à la capitale du pays (Algérie), elle est située à 36.18° de latitude Nord et 5.4° de longitude Est et à 1080 m d'altitude, sous un bioclimat semi-aride, variante à hiver frais.

Conditions thermiques de l'année expérimentale

Les valeurs des températures relevées toutes les trois heures dans la région de Sétif sont présentées graphiquement ci-dessous. Durant l'année 2008, les valeurs des températures suivent une distribution en cloche avec un maximum observé durant le mois d'Août (Figure 1). La température moyenne est de 14.78°C avec un minimum de -3.6°C et un maximum de 40°C.

Figure 1 : Températures tri-horaires de la région de Sétif durant l'année 2008



Pour la période s'étendant de 1998 à 2007, nous avons calculé le quotient pluviothermique d'Emberger Q2 (Tableau 1) et estimé la moyenne des maxima du mois le plus chaud (M) et la moyenne des minima du mois le plus froid (m) pour mieux définir les périodes exceptionnellement froides et chaudes pour la région de Sétif. La répartition de ces stress au cours du temps peut donner une indication sur la tendance des variations thermiques pour la période considérée.

Tableau 1 : Quotient pluviométrique d'Emberger de la région de Sétif (1998-2007)

P (mm)	T°				Q2	Etage bioclimatique
	Mois le plus chaud	M (°C)	Mois le plus froid	m (°C)		
405.41	Juillet	33.91	Janvier	2.07	43.73	Semi aride à hiver frais

Les stress ont été définis de la manière suivante : pour les périodes froides, nous avons considéré qu'une température était stressante, lorsqu'elle est inférieure à « m » c'est-à-dire inférieur à 2°C. Quant aux périodes chaudes, on considère que le stress est présent si la température dépasse le seuil de M= 34°C.

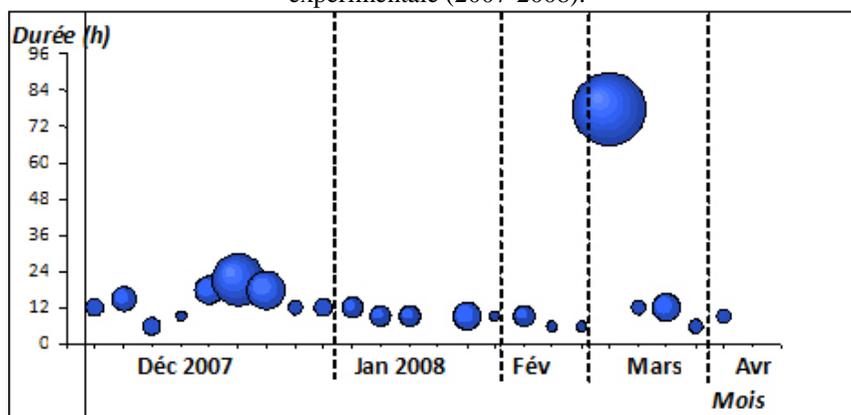
Nous avons choisi les paramètres suivants :

- **La date et la durée du stress** (en heures)
- **Le poids** : en degrés Celsius, avec 2°C de température minimale comme référence : par exemple : une température minimale de -3.1°C aura un poids de : 2°C- (-3.1°C)= 5.1°C. On fait la somme de ces valeurs pour toute la durée de stress.
- **L'intensité du stress** : (en degrés Celsius/heure), c'est le poids par rapport à la durée : des périodes de froids peuvent être longues et modérées, d'autres courtes mais intenses.

Les basses températures

Durant le mois de Décembre la période de refroidissement a duré exceptionnellement plus de 18 jours, où les basses températures comprises entre 2 et -4°C ont durée 111 heures. Ce mois est particulièrement marqué par un stress intense (1.26°C/heure) enregistré durant le 17^{ème} jour et qui persiste durant 21 heures (Figure 2).

Figure 2: Stress de froid enregistrés durant la saison hivernale et printanière de l'année expérimentale (2007-2008).



Pour le mois de Janvier, on remarque 6 stress, le premier et le deuxième sont observés dès le début de mois, le troisième est enregistré

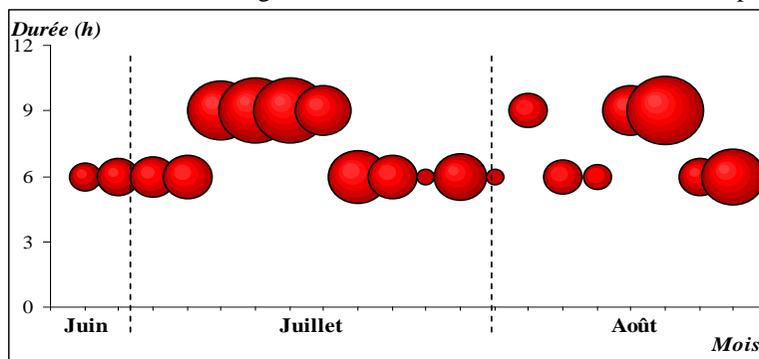
durant le 13^{ème} jour du mois, avec une durée de 9 heures successives, le quatrième stress est de faible intensité (0.02°C/heure) enregistré pendant le 18^{ème} jour, le cinquième stress est remarquable par son intensité maximale 0.99°C/heure et son poids relativement élevé (8.9°C) (Figure 2). Le dernier stress est observé pendant le 26^{ème} jour de mois et qui a duré 9 heures. Ainsi, le mois de Février est caractérisé par trois stress, le premier est enregistré dès le début de mois où les températures comprises entre (2 -2°C) ont duré 9 heures, le deuxième est observé durant le 10^{ème} jour de mois avec une durée de 6 heures successives, le troisième est observé pendant le 18^{ème} jours et qui dure 6 heures, avec un poids relativement faible (1.4°C) (Figure 2).

Durant la saison printanière et au cours de la première semaine de mois de Mars, on a enregistré un stress assez long et remarquable où les températures tri-horaires sont persistées pendant trois jours successifs au-dessous de 2°C. Ce stress est caractérisé par un refroidissement intense (0.71°C/heure) (Figure 2). Un autre stress de faible intensité (0.16°C/heure) a été enregistré pendant le 9^{ème} jour du mois qui dure 12 heures. Ainsi vers la fin de ce mois on a enregistré deux stress de faible intensité d'une durée totale de 18 heures. Cependant le mois d'avril est caractérisé par un seul stress de faible intensité (0.22°C/heure) et pour une durée de 9 heures.

Les hautes températures

Les périodes de chaleur les plus importantes (avec une intensité d'au moins 1°C/heure, se sont produites essentiellement durant le 8^{ème} et le 9^{ème} jour de mois de Juillet, où les températures chaudes comprises entre 34 et 38°C ont durées 9 heures pour chaque stress. Enfin durant le mois d'Août on a enregistré plusieurs stress, où les températures chaudes comprises entre 34 et 40°C ont durées 51 heures. Les stress les plus intenses sont enregistrés durant le 13^{ème} et 19^{ème} jour du mois où leurs poids varient respectivement de 9.2°C à 6.5°C (Figure 3).

Figure 3 : Stress de chaleur enregistrés durant la saison estivale de l'année expérimentale.



Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour cette étude est constitué de jeunes plants de Pin d'Alep (*Pinus halepensis Mill.*), âgés d'une année, placés dans

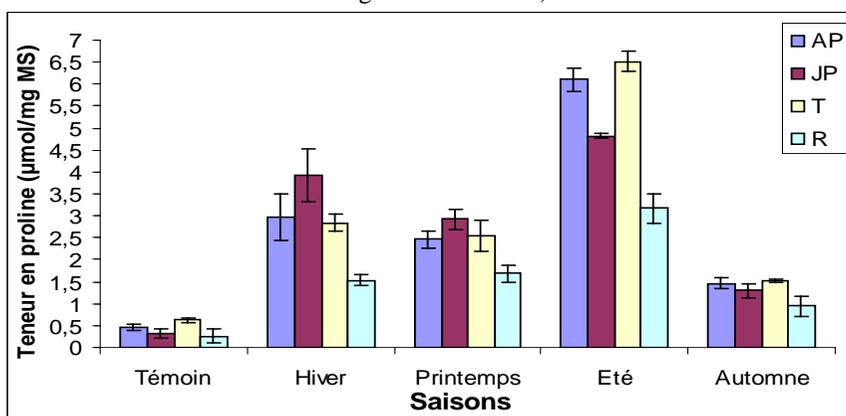
des sachets polyéthylènes à base de sol provenant de la pépinière, ce sol est constitué de sable, terre végétale avec un pH proche de la neutralité. Les semis sont arrosés régulièrement deux fois par semaine et exposés aux conditions naturelles.

Les dosages biochimiques ont été effectués saisonnièrement au niveau des différents organes des semis de pin d'Alep : aiguilles de la première et de la deuxième pousse de croissance, tiges et racines. La proline est extraite selon la méthode de Troll et Lindsley (1955), les sucres solubles selon la méthode de Dubois et al. (1956), alors que la méthode suivie pour le dosage des pigments chlorophylliens est celle de Mac Kinney (1941).

Résultats

Les résultats obtenus montrent que les basses températures de la saison hivernale et les hautes températures de la saison estivale ont induit une très grande accumulation de la proline au niveau des différents organes (Figure 4). Les valeurs les plus élevées sont enregistrées durant la saison estivale avec des taux d'augmentation de 1232.31% au niveau des aiguilles des anciennes pousses, 1368% pour les aiguilles des jeunes pousses, 936.24% pour les tiges et 1147.63 au niveau des racines. En effet, les gelées tardives enregistrées durant la saison printanière provoquent aussi une augmentation de la teneur en cet acide aminé dans les différents organes des semis. Pour cette saison, la valeur minimale est enregistrée au niveau des racines $1.681 \pm 0.207 \mu\text{mol/mg M.S.}$

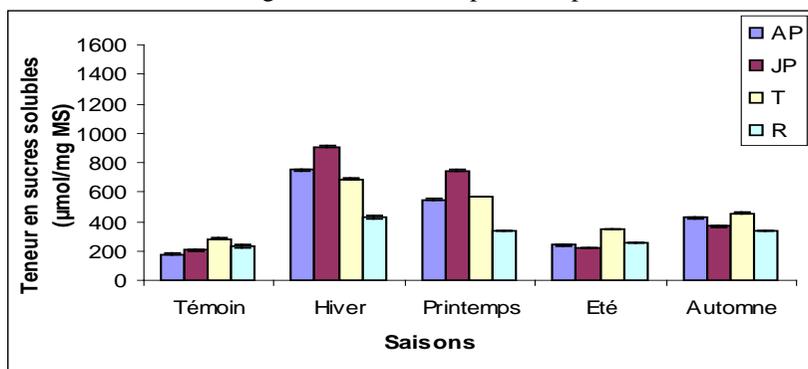
Figure 4: Variation inter-saisonnière des teneurs en proline dans les différents organes des semis de pin d'Alep (AP: Aiguilles des ancienne pousses, JP: Aiguilles des jeunes pousses, T: tiges et R : racines).



Comparés aux témoins, les semis de pin d'Alep élevés dans les conditions naturelles produisent plus de sucres solubles dans leurs organes. En effet, la saison hivernale amplifie davantage l'accumulation des sucres dans les différents organes des semis, atteignant pratiquement le quadruple de celle du témoin pour les aiguilles, alors que les racines et les tiges présentent des gains allant de 88.16% à 145.64% respectivement (Figure 5).

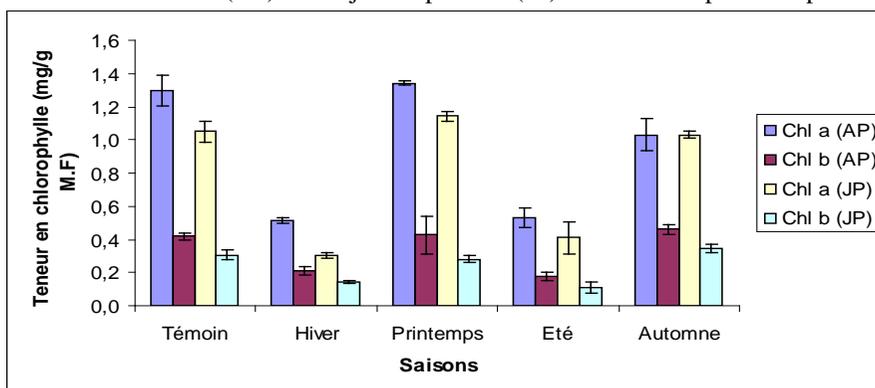
Ainsi, les basses températures enregistrées durant la saison printanière (129 heures) ont induit aussi une très grande accumulation des sucres solubles au niveau des différents organes avec des teneurs allant de 335.56 $\mu\text{mol}/\text{mg MS}$ à 745.84 $\mu\text{mol}/\text{mg MS}$.

Figure 5. Variation inter-saisonnière des teneurs en sucres solubles dans les différents organes des semis de pin d'Alep.



On peut noter que les teneurs en pigments chlorophylliens au niveau des aiguilles des semis de pin d'Alep dépendent de la sévérité de la saison. Durant la saison hivernale, on note une baisse de la chlorophylle (a) et (b) avec un taux de réduction allant de 50.23% à 60.27% au niveau des aiguilles de deux pousses (Figure 6). Alors que pendant la saison estivale, cette réduction, décelée dans les tissus photosynthétiques, atteint 59.19% et 65.35% par rapport au témoin respectivement pour la chlorophylle (a) et la chlorophylle (b).

Figure 6: Variation inter-saisonnière des teneurs en chlorophylle (a) et (b) dans les aiguilles des anciennes (AP) et des jeunes pousses (JP) des semis de pin d'Alep.

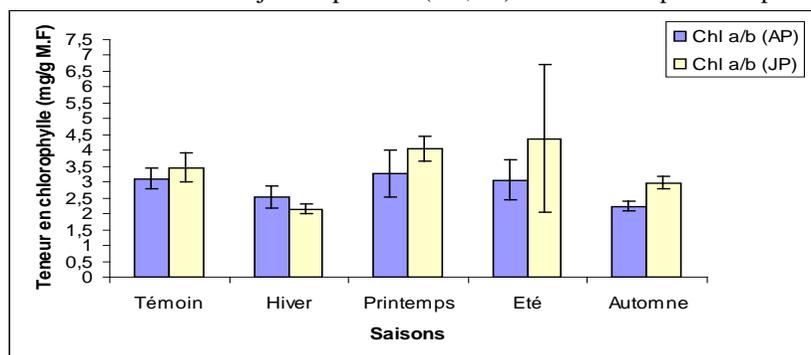


Durant la saison printanière, les aiguilles des deux pousses de pin d'Alep produisent un peu plus de la chlorophylle (a) avec un taux de 1.343 ± 0.016 mg/g MF pour les pousses adultes et 1.142 ± 0.027 mg/g MF pour les jeunes pousses (Figure 6). Cependant durant la saison automnale, on note

une forte diminution de la teneur en chlorophylle (a) au niveau des pousses adultes (-20.63%) par rapport au témoin tandis que la teneur au niveau des jeunes pousses reste presque identique à celle du témoin (-1.81%).

Concernant le rapport chlorophyllien (chlorophylle a/b), on remarque que durant la saison hivernale et automnale, ce rapport est inférieur à celui du témoin avec des taux de diminution allant de 13.89% à 37.71% (Figure 7). Dans ces conditions, il y a plus de chlorophylle « b », ce qui provoque une diminution du rapport chlorophyllien. En revanche, ce rapport est relativement élevé durant la saison printanière ce qui indique que l'équilibre pigmentaire est changé.

Figure 7 : Variation inter-saisonnière des teneurs en chlorophylle a/b dans les aiguilles des anciennes et des jeunes pousses (AP, JP) des semis de pin d'Alep



Discussion

L'examen des résultats saisonniers montre que la teneur en sucres solubles des semis de pin d'Alep durant la saison hivernale est nettement supérieure à celle des autres saisons. Cette période est dominée par la fréquence des stress où les basses températures s'échelonnent entre 2 et -4°C avec une durée totale de 228 heures. L'augmentation de la teneur en sucres solubles dans les organes des semis durant la saison hivernale, serait peut être le résultat d'une dégradation accrue de l'amidon au cours de cette saison. Smith et al. (1979) montrent aussi que l'augmentation des températures estivales favorise l'accumulation de l'amidon et retarde son hydrolyse tandis que les basses températures nocturnes au cours de la période de maturation accélèrent la dégradation, ceci est en accord avec nos résultats.

La teneur des semis de pin d'Alep en proline présente des accumulations importantes et des fluctuations en fonction des variations thermiques saisonnières. Alors qu'elle est relativement faible dans les conditions normales (témoin). Knu et Chen (1986) montrent que la teneur en proline est très faible dans les feuilles et les organes productifs en conditions favorables.

A l'exception de la saison estivale, la teneur en proline est corrélée à celle des sucres solubles pendant les autres saisons. Cependant durant la saison estivale, les semis de Pin d'Alep accumulent différemment ces deux métabolites où on a enregistré une forte accumulation de la proline et une faible concentration en sucres solubles. L'accumulation simultanée ou non de ces deux solutés suivant le degré de stress, permet aux plantes de supporter les températures extrêmes. Le processus de concentration des sucres solubles et ou de la proline dans les tissus foliaires des plantes stressées est reconnu comme une caractéristique d'adaptation (Kameli et Losel, 1995).

L'accumulation de la proline est une des stratégies adaptatives déclenchées par la plante face aux contraintes de l'environnement (Belkhouja et Benkabilia, 2000). Elle s'accumule durant : le stress hydrique (Hubac et Viera Da Silva, 1980), le stress salin (Stewart et Lahrer, 1980), ainsi sous l'effet des basses et hautes températures (Chu et al, 1978, Paleg et al, 1981). En effet, durant la saison printanière et estivale, on remarque une accumulation significative de cet acide aminé. Cette augmentation pourrait être attribuée au développement des plants pendant ces deux saisons et de leurs besoins en composés azotés, dont la proline, qui en cas de besoin, représente l'un des composés les plus facilement mobilisables. Laplante (2003) montre que l'exposition des plants aux premières gelées déclenche la seconde étape adaptative qui consiste en un ensemble de changements métaboliques permettant une tolérance maximale au froid.

Selon Hare et Cress (1997), la proline contribue à stabiliser les structures sous cellulaires (les membranes et les protéines), les radicaux libres, et le potentiel redox cellulaire dans des conditions de stress et maintenir des rapports appropriés de NADP⁺/NADPH compatibles avec le métabolisme. Elle peut aussi agir comme donneur d'électrons (De Ronde et al., 2004).

Concernant la teneur maximale en sucres solubles enregistrée durant la période hivernale, on peut constater que l'amidon est converti en glucides simples solubles durant cette saison, ce qui contribue à abaisser la température de cristallisation en augmentant la concentration de solutés (surfusion). La réduction des taux des sucres solubles durant la saison estivale témoigne de sa forte translocation vers les organes en pleine croissance, pour y être métabolisé et servir à d'autres besoins, cela explique le rythme rapide de croissance des plants durant la saison estivale (Sakai et Larcher, 1997 in Rached-Kanouni et al., 2012).

Concernant la chlorophylle, une baisse importante des teneurs en pigments photosynthétiques a été enregistrée durant la saison hivernale et estivale. Parmi les causes possibles expliquant cette réduction, la destruction des membranes thylakoïdiennes cellulaires : une perte de la

compartimentation cellulaire peut en effet inhiber le déroulement des grandes fonctions métaboliques (Cornic et Ghashghaie, 1991). On peut constater que le système photosynthétique est endommagé par les températures stressantes et la réduction des taux des pigments chlorophylliens peut être expliqué par un abaissement de contenu en protéines thylacoïdal associé aux chlorophylle (a) et (b) (Loggini et al. 1999). Cet abaissement est du soit à une faible synthèse de ces protéines, soit à une activation de leur dégradation. Ainsi, Miller (1993) a démontré que les températures élevées peuvent provoquer la dénaturation de protéines, l'inactivation des enzymes et la réduction de l'activité photosynthétique du chloroplaste. Ce même auteur prouve que le photosystème II (PSII) est très vulnérable à l'effet des hautes températures.

Au seuil de 5% la matrice des corrélations, révèle des corrélations négatives et très hautement significatives entre la teneur en proline d'une part et la teneur en chlorophylle (a) ($r = -0.646$), la teneur en chlorophylle (b) ($r = -0.819$) d'autre part. On peut noter que les plants qui accumulent plus la proline sont aussi ceux qui connaissent la plus forte réduction de ces teneurs en pigments chlorophylliennes et vice versa.

Conclusion

En conclusion, l'étude révèle le caractère thermophile des semis de pin d'Alep qui ont répondu aux stress thermique, liés à la saison estivale, par une augmentation de leurs teneurs en proline et par la réduction des concentrations des sucres solubles qui sont stockées sous une forme complexe, ce qui traduit l'augmentation des taux de matière sèche durant cette saison. En effet, les taux d'accumulation des osmolytes dans les différents organes testés marquent très bien la limite thermique de notre espèce et peuvent nous indiquer la capacité d'adaptation de notre espèce aux changements thermiques.

References:

- Belkhodja M. Proline response of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. *Egypt .J.of Agric.Res.*, 78 (1), 185-195, 2000
- Bohnert, H.J., Nelson, D.E., Jensen, R.G. Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell*, 7, 1099-1111, 1995
- Chu, T.M., Jusaitis, M., Aspinall, D., Paleg, L.G. Accumulation of free proline at low temperatures. *Physiol Plant*, 43, 254-260, 1978
- Cornic G., Ghashghaie J. Effect of temperature on net CO₂ assimilation and photosystem II quantum yield of electron transfer of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves during drought stress. *Planta* 185, 255-260, 1991
- Delauney, A.J., Verma D.P.S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J*, 4, 215-223, 1993

- De Ronde, J.A., Cress, W.A., Krüger, G.H.J., Strasser, R.J., Van Staden, J. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an Arabidopsis P5CR gene, during heat and drought stress. *J. Plant. Physiol*, 161, 1211-1224, 2004
- Dubois, M., Gillesk, L., Hamilton, J., Reberg A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugar and related substance analytical, *Chemistry*. Vol 28: 14-15, 1956
- Hare, P.D., Cress, W.A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regul*, 21, 79-102, 1997
- Hubac, C., Vieira, Da Silva, J. Indicateurs métaboliques de contraintes mésologiques. *Physiol. Vég*, 18, 45-53, 1980
- Kameli, A., Losel, D.M. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *Plant physiol*, 145, 363-366, 1995
- Laplante, N., Paramètres climatiques engendrant le gel des bourgeons chez le bleuet en Corymbe dans la région de Granby (Québec). *Université du Québec à Rimouski Travail réalisé dans le cadre du cours Climatologie G2O-250-01*, 13-16, 2003
- Mac Kinney, G. Absorption of light by chlorophyll solution. *Biol. Chem.*, 140, 315-322, 1941
- Miller, N. Expression d'une thermotolérance au niveau de la fonction du photosystème II. *Mémoire présenté à l'université du Québec pour la maîtrise en biophysique*, 159p, 1993
- Paleg, L.G., Douglas, T.J., Van Dali, A., Keech, D.B. Proline, betaine and other organic solutes protect enzymes against heat inactivation. *Aust. J. Plant Physiol*, 8, 107-114, 1981
- Rached-Kanouni, M., Meribai, S., Alatou, D. Effets des hautes températures sur le chêne liège. *European Journal of Scientific Research*, Vol.74 (3), 370-380, 2012
- Rached-Kanouni, M., Alatou, D., Sakr, S. Responses of cork oak seedlings to short-term exposures to low temperatures. *American Journal of Scientific Research*, 59, 28-41, 2012
- Smith, R.B., Loughheed, E.C., Franklin, E.W., Mc Millan, I. The starch iodine test for determining stage of maturation in apples. *Canadian Journal of Plant Science*, 59, 725-735, 1979
- Travers, I. Influence des conditions pédoclimatiques du terroir sur le comportement du pommier et la composition des pommes de cidre dans le Pays d'Auge. *Thèse de doctorat de l'université de CAEN/basse-Normandie*, 78-82, 2004
- Troll, W., Lindsley, J. A photometric method for the determination of proline. *J. Boil. Chem.* 215, 655-660, 1955