

Adaptation des semis de Pin pignon (*Pinus pinea* L.) au stress combiné hydrique et thermique par des marqueurs biochimiques

Chaima TOUABA¹ et Djamel ALATOU²

Université des Frères Mentouri Constantine1, Route de Ain El bey-25000 Constantine Algérie.

^{1,2} Laboratoire de développement et valorisation des ressources phyto-génétiques. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département de Biologie et Écologie Végétale.

*Auteur correspondant ; E-mail : chaimatouaba@yahoo.fr et djalatou@yahoo.fr , Tél : (+213) 0552215938, (+213) 0771271040

Original submitted in on 19th May 2017. Published online at www.m.elewa.org on 30th June 2017
<https://dx.doi.org/10.4314/jab.v114i1.12>

RESUME

Objectif : L'objectif de ce travail consiste à analyser les effets d'un stress hydrique et thermique sur des semis de pin pignon élevés en conditions semi-contrôlées. Les variations de la teneur en proline, en sucres solubles et en pigments chlorophylliens sont suivies chez les différents organes (aiguilles, tiges et racines).
Méthodologie et Résultats : Trois niveaux de stress hydrique sont identifiés selon la saturation en eau du sol à 75%, 55% et 35% ; le stress thermique est réalisé à des températures croissantes de 38°C, 44°C, et 50°C pendant une durée de 3 heures afin de quantifier le taux des marqueurs biochimiques sur les semis âgés d'une année. Les résultats obtenus montrent une augmentation significative de la proline au niveau des aiguilles à 38°C et des taux importants de sucres solubles au niveau des aiguilles à 25°C (témoin), 38°C, 44°C et 50°C, alors qu'une diminution est remarquée pour leurs pigments chlorophylliens.

Mots-clés : Pin pignon, stress, marqueurs biochimiques, proline, sucres solubles, chlorophylle.

ABSTRACT

Objective: Objective of the present study was to analyze the effects of water and thermal stress on seedlings stone pine grown under semi-controlled conditions. Variations in proline, soluble sugars and chlorophyll pigments contents were monitored for different organs (leaves, stems and roots).

Methodology and Results: Three levels of water stress were identified according to water saturation in the soil at 75%, 55% and 35%; the thermal stress was carried out at increasing temperatures of 38 ° C., 44 ° C. and 50 ° C for a time period of 3 hours; In order to quantify the evolution of biochemical markers on one-year-old seedlings. The obtained results showed a significant increase in rate of proline in leaves at 38 ° C; And an important rate of soluble sugars in the leaves at 25°C. (Control), 38°C, 44°C and 50 ° C, however, a decrease in their chlorophyll pigments was noticed.

Key words: Stone pine, stress, biochemical markers, proline, soluble sugars, chlorophyll.

INTRODUCTION

La physiologie et la productivité de la végétation forestière sont directement affectées par la température, la disponibilité des nutriments, le régime hydrique et indirectement par l'interaction interspécifique (Graumlich, 1993). Le Pin pignon est une essence forestière présente en Algérie sous forme de reboisement, elle intéresse les forestiers pour son introduction dans le massif de Djebel Ouahch à Constantine, en zone continentale à la limite du semi-aride pour son intérêt économique sur sa production de pignes et de son bois ; bien qu'il soit beaucoup plus nouveau que le pin d'Alep et le pin maritime. Cette essence est parfois considérée comme arbre fruitier pour sa rentabilité de ses fruits. Il est intéressant

d'approfondir son écologie qui reste peu connue des spécialistes, et de définir ses amplitudes thermiques. Les stress environnementaux tels que, les hautes températures, le déficit hydrique et autres, affectent la croissance et le rendement des arbres. Cependant, ces derniers peuvent développer des stratégies d'adaptation pour répondre à ces changements en ajustant leur système métabolique. Dans ce travail, nous envisageons d'étudier le degré de tolérance du pin pignon aux conditions de stress hydrique et thermique, tout en essayant d'évaluer sa capacité d'adaptation par des marqueurs biochimiques (la chlorophylle, les sucres solubles et la proline).

MATERIELS ET METHODES

Matériel végétal : Le matériel végétal utilisé est constitué de semis de pin pignon, âgés d'une année, fournis par la pépinière de Djebel Ouahch, (Constantine). Ces derniers élevés en conditions naturelles, puis transférés en chambre de culture en conditions semi-contrôlées, avec une température de 24°C (jour) et de 10 °C (la nuit) et sous une photopériode de 16 heures. Les semis en sachets sont repiqués en pots remplis d'un substrat de pépinière et ils sont arrosés une fois jusqu'à la capacité aux champs (100%). Les niveaux hydriques sont déterminés régulièrement à l'aide d'une sonde hydro thermique. Les niveaux retenus sont :

N1=75%, N2=55%, N3=35%.

Les plants sont transférés aux températures suivantes 38°C, 44°C et 50°C durant une période de 3 heures. Après chaque stress les analyses biochimiques (Chlorophylle, sucres solubles et proline) sont réalisées au niveau des différents organes (aiguilles, tiges et racines). Après chaque stress les analyses

biochimiques (Chlorophylle, sucres solubles et proline) sont réalisées au niveau des différents organes (aiguilles, tiges et racines).

Paramètres biochimiques :

Dosage de la chlorophylle : l'extraction de la chlorophylle est réalisée selon la méthode de Mac Kiney, (1941) et Arnon, (1949).

Dosage des sucres solubles : les sucres solubles totaux sont dosés par la méthode au phénol de Dubois *et al.*, (1956).

Dosage de la proline : Le dosage de la proline est effectué selon la méthode de Trolls et Lindsley, (1955). Les résultats sont soumis à une analyse de la variance à un ou deux facteurs fixes de classification, les moyennes sont comparées selon la méthode de Newman et Keuls, basée sur la plus petite valeur significative, alors que les tests de corrélation ont été déterminés grâce au le logiciel Excel Stat ([V.2014.5.03](#)). On considère que les résultats sont significatifs quand la valeur $-p \leq 0.05$.

RESULTATS

Teneur en chlorophylle : Les résultats obtenus montrent que la chlorophylle (a) présente des valeurs élevées par rapport à celles de la chlorophylle (b). Les hautes températures induisent une diminution de la chlorophylle (a) par rapport au témoin. Cette diminution atteint son maximum à 50°C (-15.84%) pour le niveau N1, (-15.90%) pour le niveau N2 et (-43.88%) pour le dernier niveau N3.

Concernant la chlorophylle (b), les résultats varient de la même tendance que ceux de la chlorophylle (a). Pour le stress combiné (hydrique et thermique), la diminution des chlorophylles est plus sévère pour toutes les températures à tous les niveaux. La réduction est de -90% pour la chlorophylle (a), et de -87% pour la chlorophylle (b) pour le niveau N3 (Figure 1).

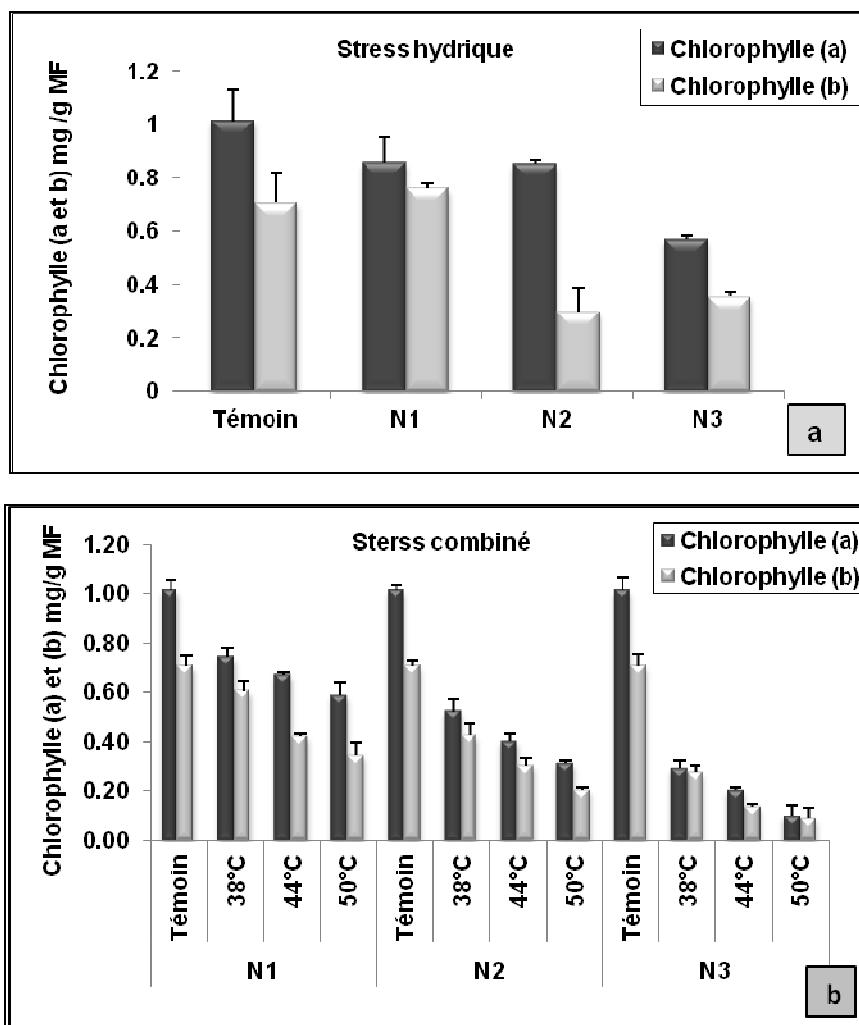


Figure 1 : Variations des teneurs en chlorophylle (a et b) des aiguilles de pin pignon soumis à différents niveaux de stress hydrique et thermique

Pour le stress hydrique, le test de Newman et Keuls au seuil de 5% ; révèle la présence de deux groupes. Pour la chlorophylle (a), le groupe A englobe le témoin, N1 et N2, le groupe B réunit le niveau 3. Alors que, pour la

chlorophylle (b), le groupe A rassemble le N1 et le témoin, le groupe B est affecté au N2 et N3 (Tableau 1).

Tableau 1 : Test de Newman et Keuls à 5%

Stress hydrique					
Chlorophylle (a)			Chlorophylle (b)		
Modalité	Moy(mg/g)	Groupes	Modalité	Moy(mg/g)	Groupes
Témoïn	1.014	A	N1	0.760	A
N1	0.857		Témoïn	0.706	
N2	0.852	B	N3	0.355	B
N3	0.569		N2	0.296	

Le test de Newman et Keuls à 5% montre que la chlorophylle a et b varient dans le même sens à savoir

l'obtention de groupe homogène pour les différentes températures et niveaux. Pour le niveau 3, la

chlorophylle a présente trois groupes homogènes dont le B renferme les températures 38°C et 44°C (Tableaux 2 et 3). Pour la chlorophylle b, on retrouve les quatre groupes avec les plus faibles moyennes à la

température 50°C. L'analyse de la variance ($p < 0.0001$) montre une différence très significative entre les différents traitements thermiques.

Tableau 2 : Test de Newman et Keuls à 5%

Chlorophylle (a)						
T°C	Stress combiné (N1)		Stress combiné (N2)		Stress combiné (N3)	
	Moy	Groupes	Moy	Groupes	Moy	Groupes
Témoin	1.014	A	1.014	A	1.014	A
38°C	0.742	B	0.523	B	0.291	B
44°C	0.672	C	0.402	C	0.203	B
50°C	0.589	D	0.311	D	0.101	C

T°C: température en degré Celsius, Moy: moyennes estimés en mg/g MF

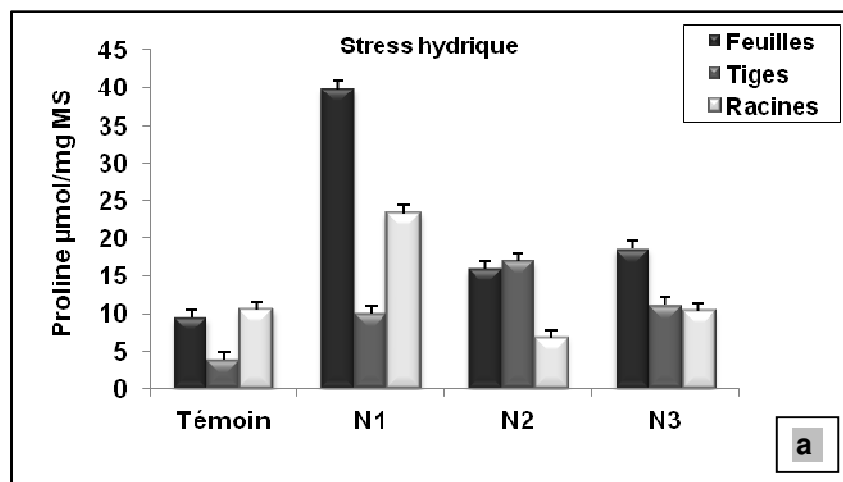
Tableau 3 : Test de Newman et Keuls à 5%

Chlorophylle (b)						
T°C	Stress combiné (N1)		Stress combiné (N2)		Stress combiné (N3)	
	Moy	Groupes	Moy	Groupes	Moy	Groupes
Témoin	0.707	A	0.707	A	0.707	A
38°C	0.606	B	0.426	B	0.275	B
44°C	0.423	C	0.303	C	0.136	C
50°C	0.345	D	0.205	D	0.091	D

T°C: température en degré Celsius, Moy: moyennes estimés en mg/g MF

Teneurs en proline : Les résultats de la figure (2) montrent que les teneurs les plus importantes en proline sont détectées dans les aiguilles, comparativement aux racines et aux tiges. L'augmentation de la proline dans les aiguilles et les racines des semis caractérise le niveau N1 (75%). Au

niveau des tiges l'accumulation de la proline est observée au niveau N2 (Figure 2.a). Au cours du stress combiné, les teneurs en proline obtenues, sont supérieures à celles du témoin jusqu'au dernier niveau N3 pour les différents températures (Figure 2.b).



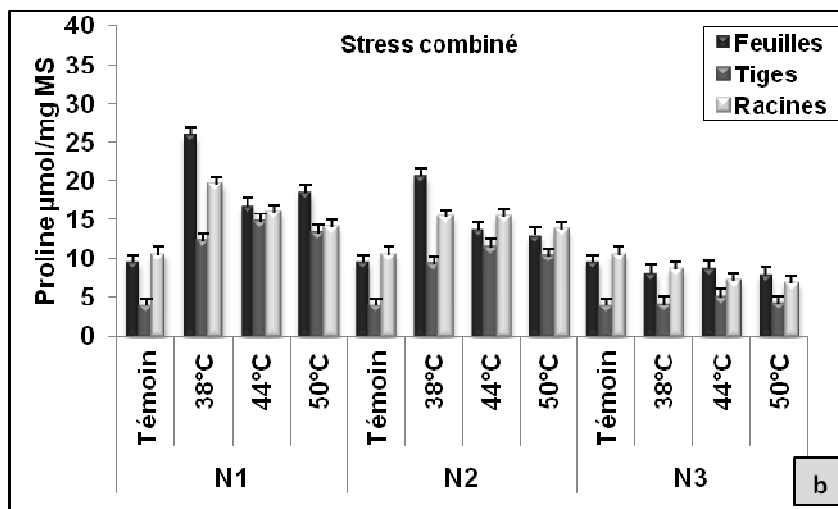


Figure 2 : Variations de la teneur en proline au niveau de différents organes de semis du pin pignon soumis à différents niveaux de stress hydrique et thermique

L'analyse statistique des résultats obtenus du stress hydrique montre l'existence de trois groupes, le niveau N1 représente le groupe A avec la moyenne la plus

élevée, les niveaux N2 et N3 forment le groupe B et le témoin correspond le groupe C avec la moyenne la plus faible (Tableau 4).

Tableau 4 : Test de Newman et Keuls à 5%

Stress hydrique		
Modalité	Moy (µmol/mg MS)	Groupes
N1	24.421	A
N3	13.326	B
N2	13.209	
Témoin	7.946	C

A partir du test Newman et Keuls, La comparaison des moyennes fait sortir trois groupes homogènes pour les différents niveaux de stress combiné, le premier groupe est représenté par les moyennes les plus fortes ;

Tandis que, le dernier groupe est observé chez le témoin pour le niveau N1 et N2, et la température 50°C pour le niveau N3, qui caractérise la moyenne la plus faible (Tableau 5).

Tableau 5 : Test de Newman et Keuls à 5%

Stress combine (N1)			Stress combine (N2)			Stress combine (N3)		
T°C	Moy	Groupes	T°C	Moy	Groupes	T°C	Moy	Groupes
38°C	19.170	A	38°C	15.016	A	Témoin	7.946	A
44°C	15.781	B	44°C	13.461	B	38°C	6.909	AB
50°C	15.230		50°C	12.272		44°C	6.728	
Témoin	7.946	C	Témoin	7.946	C	50°C	6.266	B

T°C: température en degré Celsius, Moy: moyennes estimés en µmol/mg MS

Pour les organes, l'analyse statistique révèle l'existence de trois groupes homogènes pour le niveau N1 et deux groupes pour le niveau N2 et N3 (Tableau 6). La teneur

en proline est plus élevée au niveau des aiguilles comparativement avec les racines et les tiges.

Tableau 6 : Test de Newman et Keuls à 5%

Stress combiné						
Organes	Niveau (N1)		Niveau (N2)		Niveau (N3)	
	Moy	Groupes	Moy	Groupes	Moy	Groupes
Aiguilles	17.837	A	14.234	A	8.453	A
Racines	14.968	B	13.682		8.189	
Tiges	11.008	C	8.709	B	4.298	B

Teneurs en sucres solubles : La forte teneur en sucres solubles est enregistrée au niveau des aiguilles, alors que la plus faible est observée au niveau des

racines à différents traitements hydriques et thermiques (Figure 3 a,b).

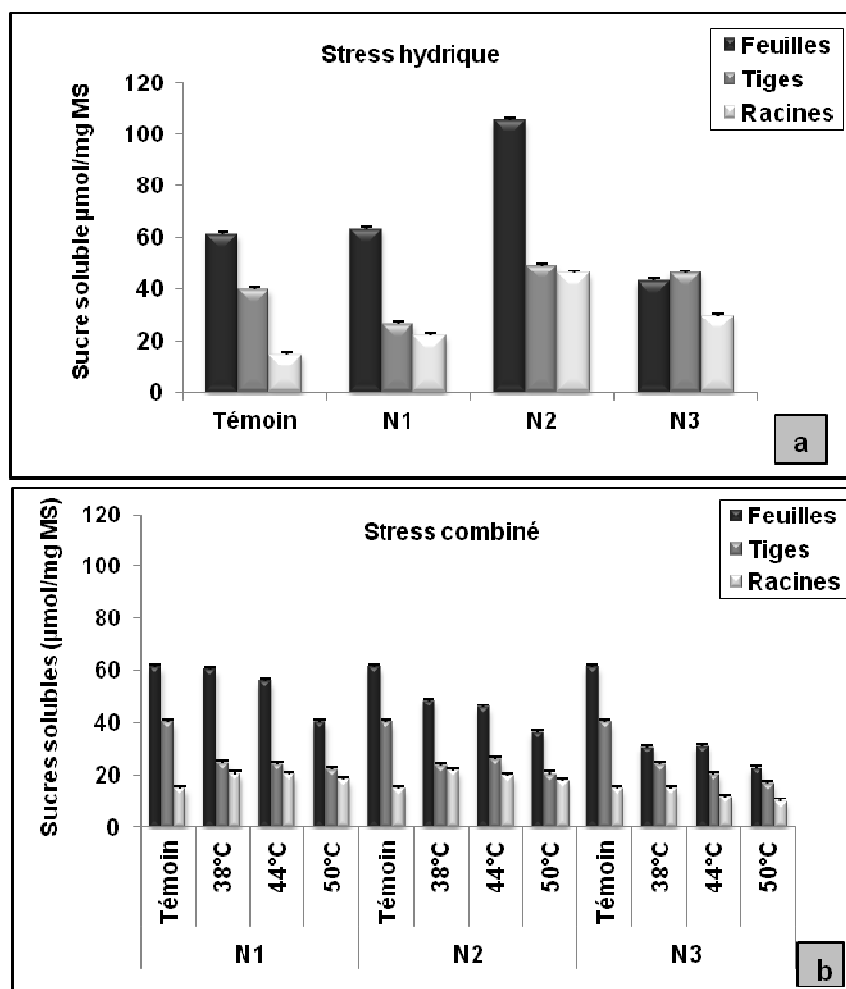


Figure 3 : Variations de la teneur en sucres solubles au niveau de différents organes de semis du pin pignon soumis à différents niveaux de stress hydrique et thermique

Les résultats de l'analyse statistique montrent l'existence de deux groupes homogènes dans les différents niveaux du stress hydrique, où le premier groupe A correspond au niveau N2 avec la plus forte

moyenne (66.857µmol/mg), le second B englobe les niveaux N3, N1 et le témoïn avec des moyennes faibles.

Tableau 7 : Test de Newman et Keuls à 5%

Stress hydrique		
Modalité	Moy ($\mu\text{mol}/\text{mg}$)	Groupes
N2	66.857	A
N3	39.581	B
Témoin	38.637	
N1	37.061	

A partir du test Newman et Keuls, La comparaison des moyennes fait sortir trois groupes homogènes au cours du stress combiné pour les niveaux N2 et N3, le premier présente les moyennes les plus fortes ; alors que le dernier groupe reflète les moyennes les plus faibles. Pour le niveau N1, le test fait sortir deux

groupes, le premier englobe le témoin, N1 et N2, et le second correspond à la température de 50°C (Tableau 8). L'analyse de la variance à un critère de classification signale des différences très hautement significatives entre les températures ($p < 0.0001$).

Tableau 8 : Test de Newman et Keuls à 5%

Stress combiné (N1)			Stress combiné (N2)			Stress combiné (N3)		
T°C	Moy	Groupes	T°C	Moy	Groupes	T°C	Moy	Groupes
Témoin	38.637	A	Témoin	38.637	A	Témoin	38.637	A
38°C	34.821		38°C	30.837	B	38°C	23.101	B
44°C	33.209		44°C	30.248		44°C	20.879	
50°C	26.744	B	50°C	24.739	C	50°C	16.178	C

T°C: température en degré Celsius, Moy: moyennes estimés en $\mu\text{mol}/\text{mg}$ MS

Tableau 9 : Test de Newman et Keuls à 5%

Stress combiné				
Organes	Niveau (N1)	Niveau (N2)	Niveau (N3)	Groupes homogènes
	Moy	Moy	Moy	
Aiguilles	55.122	48.257	36.183	A
Tiges	27.521	27.143	25.161	B
Racines	18.259	18.369	12.661	C

Corrélation entre les variables étudiées : L'étude des différentes corrélations a pour objet de déterminer d'éventuelles relations entre les différents paramètres physiologiques (Tableau 10). Les résultats illustrés dans le tableau (9) montrent des variations importantes dans l'accumulation des sucres solubles au niveau

des différents organes en fonction des stress hydriques et thermiques. Les aiguilles sont des organes de stockage, elles se comportent en puits avec des teneurs élevées en sucre solubles ; comparativement aux tiges et racines.

Tableau 10 : Matrice de corrélation des principaux paramètres physiologiques mesurés dans les semis de pinus pinea après l'application des différents niveaux de stress hydrique

variables	Chl (a)	Chl (b)	proline	sucres solubles
Chl (a)	1	0.969	-0.725	0.869
Chl (b)		1	-0.692	0.720
proline			1	-0.657
sucres solubles				1

Chl (a): chlorophylle a ; Chl (b): chlorophylle b

Au seuil de 5%, les teneurs en sucres solubles sont positivement corrélées avec celles de la chlorophylle (a) et (b), et négativement avec la proline. Le taux de proline est négativement corrélé avec les teneurs en

chlorophylle a ($r = -0.725$) et avec la chlorophylle b ($r = 0.692$) ; alors que la chlorophylle (b) est positivement corrélée avec la teneur en chlorophylle (a) ($r = 0.969$).

Tableau 11 : Matrice de corrélation des principaux paramètres physiologiques mesurés dans les semis de *Pinus pinea* après l'application de stress combiné (niveau 1)

Variables	Chl (a)	Chl (b)	Proline	Sucres solubles
Chl (a)	1	0.922	-0.761	0.898
Chl (b)		1	-0.458	0.927
Proline			1	-0.467
Sucres solubles				1

Chl (a): Chlorophylle a ; Chl (b): Chlorophylle b

Une corrélation positive est observée entre la chlorophylle (a) et (b) et les sucres solubles, alors que, la proline est négativement corrélée avec la chlorophylle (a). Au seuil de 5%, les teneurs en sucres

solubles sont positivement corrélées avec celles de la chlorophylle (a) et (b) et négativement corrélées avec la proline ($r = -0.660$), alors que cette dernière est négativement corrélée avec la chlorophylle (a) et (b).

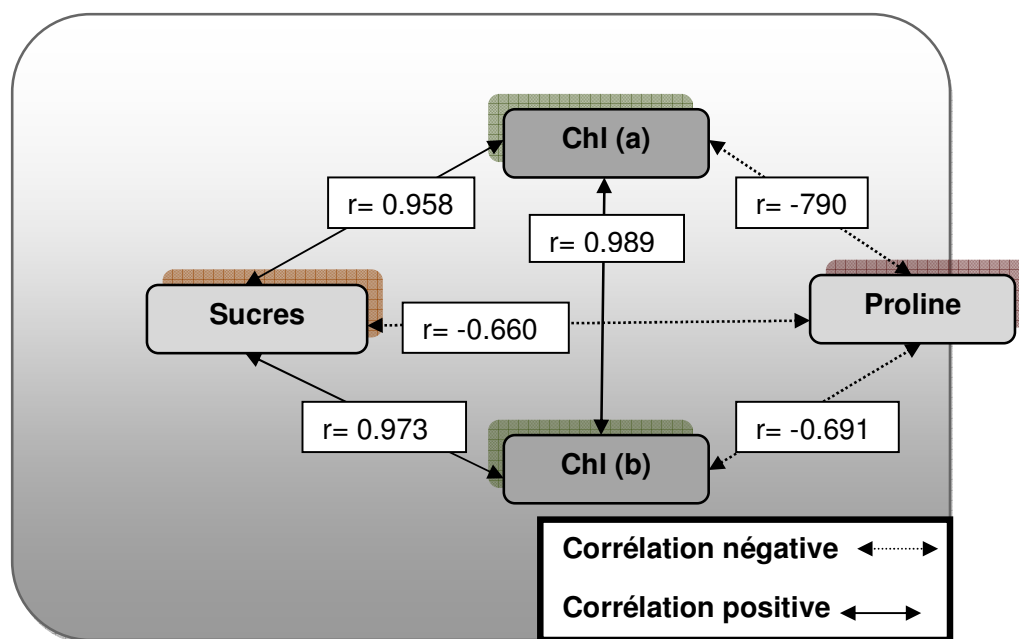


Figure 4 : Corrélations entre les paramètres biochimiques de semis de *Pinus pinea* (Niveau 2)

Tableau 12 : Matrice de corrélation des principaux paramètres physiologiques mesurés dans les semis de *Pinus pinea* après l'application de stress combiné (niveau 3)

Variables	Chl (a)	Chl (b)	Proline	Sucres solubles
Chl (a)	1	0.993	0.978	0.993
Chl (b)		1	0.979	0.990
Proline			1	0.996
Sucres solubles				1

Chl (a): Chlorophylle a ; Chl (b): Chlorophylle b

Pour le 3^{ème} niveau de stress N3, on peut constater une corrélation fortement positive entre tous les paramètres biochimiques étudiés.

DISCUSSION

Plusieurs études ont montré que, lors d'une contrainte thermique, les plantes adoptent des stratégies d'adaptation qui diffèrent d'une espèce à une autre, qui font intervenir une large combinaison de facteurs morphologiques, physiologiques et biochimiques (Monneveux & Belhassen, 1997). De ce fait, ces changements imposent la réflexion sur les stratégies à entreprendre pour comprendre les mécanismes mis en jeu par les plantes afin de s'adapter aux nouvelles conditions de l'environnement et de maintenir leur croissance et leur productivité (Belkhouja & Bidai, 2004 ; Trinchant *et al.*, 2004). Une diminution importante de la chlorophylle (a) et (b) est observée durant l'application du stress hydrique et thermique. Des résultats similaires ont été rapportés chez une clémentine (*Citrus reticulata*) par Beniken, (2013), la teneur en chlorophylle diminue avec l'intensité du stress hydrique imposé. Laala *et al.*, (2013) ont aussi signalé une baisse importante des teneurs en pigments photosynthétiques a été enregistrée durant les hautes températures (saison estivale). Parmi les causes possibles expliquant cette réduction, la destruction des membranes thylakoidiennes cellulaires : une perte de la compartimentation cellulaire peut en effet inhiber le déroulement des grandes fonctions métaboliques (Cornic & Ghashghaie, 1991). Ainsi, Miller (1993) a démontré que les températures élevées peuvent provoquer la dénaturation des protéines, l'inactivation des enzymes et la réduction de l'activité photosynthétique du chloroplaste. Les semis soumis au stress hydrique manifestent des variations de proline selon le niveau de stress. En effet, elles sont faibles dans les conditions normales, mais elles augmentent avec le manque d'eau. Ces résultats sont en accord avec ceux de Monneveux et Nemmar, (1986) qui montrent que cette accumulation est très étroitement liée au manque d'eau et aux hautes températures. L'accumulation de la proline se comporte différemment dans les feuilles et les racines (Côme, 1992). Selon Kanouni, (2013), L'exposition des semis de chêne liège aux hautes températures comprises entre 38°C et 44°C (S3) a induit en général une augmentation importante de la teneur en proline dans les différents organes. Nos résultats montrent que la concentration en proline est plus marquée chez les feuilles ; Ces

CONCLUSION

L'ensemble des résultats, montre que l'intensité de stress hydrique et thermique est significative pour toutes les variables analysées. Les semis de Pin

résultats concordent avec ceux de Chaib *et al.*, (2015) qui ont confirmé que La teneur en proline augmente proportionnellement dans les feuilles de blé dur avec la diminution du contenu hydrique dans le sol. Les sucres solubles des semis de pin pignon sont généralement plus concentrés dans les aiguilles ; Les racines ne sont pas des tissus importants de stockage. Nos résultats en comparaison à ceux de Mefti *et al.*, (2000) sont similaires et confirment que le déficit hydrique est la cause d'une accumulation importante des sucres solubles au niveau des feuilles. Les niveaux bas de l'amidon et du saccharose peuvent indiquer que les racines sont des organes de stockage permanents avec des besoins constants durant la période de croissance des parties aériennes (Alaoui-Sossé *et al.*, 1994); ce qui montre la faible teneur en sucres solubles au niveau des racines stressées. Depuis longtemps, il est connu que le taux de sucres augmente considérablement chez des plantes soumises aux différents types de stress ; cela est observé par Chunyang, (2013) chez des arbres d'*Eucalyptus microtheca* sous différents stress hydriques. Les principaux sucres solubles accumulés sous stress sont : le glucose, fructose et le saccharose (Hare *et al.*, 1998) et ces derniers semblent jouer un rôle très important dans le maintien d'une pression de turgescence qui est à la base des différents processus contrôlant la vie d'une plante. L'augmentation de la teneur en sucres solubles serait liée à une amélioration du taux de la photosynthèse induit par le stress (Ben Khaled *et al.*, 2003). Par ailleurs, il a été observé que sous stress hydrique, les réserves amyliques sont progressivement utilisées suite à leur conversion rapide en saccharose, qui pourrait être associé à une inhibition de la synthèse de l'amidon (Bensari *et al.*, 1990 ; Geigenberger *et al.*, 1997). L'augmentation en sucres solubles pourrait avoir un rôle de protection des membranes. La présence de ces sucres solubles en période de chaleur et de sécheresse protégerait les thylakoïdes de l'altération irréversible des membranes et exercerait une action favorable sur la résistance protoplasmique à la sécheresse. Marguery (1992), affirme que la température associée à l'insolation, pourrait être un facteur déterminant pour l'accumulation des sucres.

pignon sont aptes à accumuler les différents osmolytes dans les différents organes en réponse au stress combiné.

L'accumulation des sucres solubles est bien marquée pour le témoin à une température de 38°C. Cette accumulation est essentielle chez les aiguilles. Les osmo-régulateurs comme les sucres et la proline jouent un rôle important dans l'ajustement et la stabilisation osmotique des cellules des végétaux. L'accumulation de la proline est observée au niveau des aiguilles et des racines par rapport aux tiges. Le niveau N1 indique une réponse rapide vis-à-vis de la contrainte hydrique,

alors que l'augmentation de la proline est très significative dans les racines des semis à la contrainte thermique à 38°C au niveau N1 et 44°C au niveau N2 (55%). Pour le témoin, l'accumulation de la chlorophylle (a) et (b) est plus élevée au niveau des aiguilles avec un maximum de 50°C. En conclusion, nous déduisons que le Pin pignon manifeste effectivement des traits d'adaptation biochimique en réponse aux fluctuations combiné, hydriques et thermiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alaoui-Sossé B, 1994. Cicle Parmentier, Pierre Dizengremel and Paul Barnola. Rhythmic growth and carbon allocation in *Quercus robur*. Starch and sucrose. Plant physiol. Biochem, 32 (3): 331-339.
- Arnon D, 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Plant. Physiology, 24: 1-15.
- Belkhodja M, et Bidai Y, 2004. Analyse de la proline pour l'étude de la résistance d'une halophyte *Atriplex halimus* L, la salinité. Laboratoire de Physiologie Végétale. Université Oran (Algérie), 5p.
- Ben Khaled L, Gomez AM, Ouarraqi EM, Oihabi A, 2003. Physiological and biochemical responses to salt stress of mycorrhized and/or nodulated clover seedlings (*Trifolium alexandrinum* L.). Agronomie, 23: 571-80.
- Bensari M, Calmes J, Viala G, 1990. Régulation du carbone fixé par photosynthèse entre l'amidon et le saccharose dans le feuille de soja: Influence d'un déficit hydrique. *Plant. Physiol. Biochem*, 28 (1) :113-121.
- Beniken, 2013. Evaluation de l'effet du stress hydrique et du porte-greffe sur la clémentine *Citrus reticulata* Swingle var (Sidi Aissa). Journal of applied Biosciences, 71: 5692-5704.
- Chaib G, Benlaribi M, Hazmoune T, 2015. Accumulation d'osmotocums chez le blé dur (*triticum durum* desf.) sous stress hydrique. *European Scientific Journal August*, Vol.24 (11) :1857-7881.
- Côme D, 1992. Les végétaux et le froid. 600p.
- Chunyang L, 2013. Differences in drought reponses of three contrasting *Eucalyptus microtheca* F. Muell. populations. University of Helsinki. Finland. Forest Ecology and Management. 379: 377-385.
- Cornic G, Ghashghaie J, 1991. 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.
- Dubois M, Gilles L, Hamilton J, Rberg A, Smith F, 1956. Coloremétric method for determination of sugar and related substances analytical. Chemistry. Vol, 28: 14-15.
- Graumlich LJ, 1993. Response of tree growth to climatic variation in the mixed conifer and deciduous forests of the upper Great Lakes region. *Revue canadienne de recherche forestière*, 23:133-143.
- Hare PD, Cress WA, Van Staden J, 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environ*, 21: 535-553.
- Laala A, Rached-Kanouni M, Alatou D, 2013. Les variations thermiques saisonniers et leurs impacts sur le comportement ecophysiologiques des semis de pin d'alep. *European Scientific Journal August*, Vol.24 (9):1857-7881.
- Mac Kinney G, 1941. Absorption of light by chlorophyll solution. *Biol. Chem*, 140: 315-322.
- Mefti M, Abdelguerfi A, Chebouti A, 2000. Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicago truncatula* (L.) Gaertn. Options Méditerranéennes HEAM, 173-176.
- Miller N, 1993. 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.
- Marguery P, 1992. Contribution à l'étude et à l'amélioration de la croissance du fruit chez le pommier (*Malus domestica* Dork. Cv Golden delicious). Thèse de doctorat. Université d'Amiens, 177p.
- Monneveux P, et Belhassen E, 1997. The diversity of drought adaptation in the wide. *Plant Growth Regulation*, 20: 85-92.

- Monneveux P, Nemmar M, 1986. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tender *Triticum aestivum* L. et chez le blé dur *Triticum durum*, Desf. : Étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*,583-590.
- Rached-Kanouni M, 2013. Adaptation du chêne liège (*Quercus suber* L.) aux conditions extrême de température. Thèse de doctorat, Université Mentouri, Constantine (Algérie), 84p.
- Trinchant JC, Boscarri A, Spennato G, Van de Sype G, Le Rudulier D, 2004. Proline Betaine Accumulation and Metabolism in Alfalfa Plants under NaCl Stress .Exploring Its Compartmentalization in Nodules Plant Physiology.Vol, 135:15-83-94.
- Troll W, Lindsley J, 1955. Aphotometric method for the determination of proline. *J.Boil.Chem*, 215: 655-660.