

## Etude de la composition phénolique des feuilles de *Brassica napus* L. face au déficit hydrique

*Study of phenolic composition of leaves of Brassica napus L.  
facing a drought stress*

Selma BARRIS\*, Mohamed TOUMI & Aicha BELKEBIR

Laboratoire de Biologie et Physiologie des Organismes, Faculté des Sciences Biologiques, Université des Sciences et Technologie Houari Boumediene, BP 32, El Alia, Bab Ezzouar, 16111, Alger, Algérie. \*(Barris.Selma@yahoo.fr)

**Résumé.** Le colza (*Brassica napus* L.) est une plante annuelle, cultivée principalement pour ses graines riches en lipides. Le déficit important en production d'huile végétale en Algérie fait qu'il est important de développer les cultures des plantes oléagineuses. Par ailleurs, l'Algérie est constituée majoritairement de régions arides, et souffre beaucoup du manque d'eau. Il est donc essentiel d'identifier les variétés végétales susceptibles de mieux réagir au stress hydrique et de mettre en évidence les mécanismes qui permettent à ces plantes de résister à ce déficit.

La stimulation des voies métaboliques secondaires constitue une part importante des stratégies de lutte de la plante en milieu aride. Une comparaison de la composition flavonique a été établie entre deux variétés de colza (jura et fantasio), après application d'un stress hydrique par arrêt d'arrosage.

Le travail porte sur l'analyse des hétérosides totaux ainsi que sur l'étude séparée des C-glycosides et des aglycones flavoniques (issus de l'hydrolyse des O-glycosides). L'analyse des hétérosides flavoniques indique une accumulation importante de cette classe en présence d'un déficit hydrique avec une augmentation des C-glycosides et des aglycones flavoniques. L'évolution de ces classes phénoliques semble être identique chez les deux variétés étudiées. Toutefois, une réponse précoce est enregistrée chez la variété fantasio, ce qui pourrait indiquer que la variété jura présente une meilleure résistance face au stress hydrique.

**Mots-clés :** *Brassica napus* L., stress hydrique, hétérosides, C-glycosides, aglycones flavoniques.

**Abstract.** Rapeseed (*Brassica napus* L.) is an annual plant, cultivated for its seeds rich in lipids. In Algeria, it is important to develop such oleaginous species due to the large deficit in vegetal oil production. Moreover, as the country is covered mainly by arid regions, there is a lack of water resources. Thus, it is essential to identify plant varieties which can resist drought conditions.

Stimulation of secondary metabolic pathways is an important part of the strategy of the plant during stress. A comparison of flavonoid composition has been carried out between two varieties of rapeseed (jura and fantasio) after application of drought stress by stopping watering.

The study consists on analyzing the whole heterosides, as well as the C-glycosides and the flavonoid aglycones (issued from hydrolyze of O-glycosides). Analysis of flavonoid heterosides indicates an important accumulation of this class during hydric deficit, with an increase of C-glycosides and flavonoid aglycones. The evolution of these phenolic classes appears to be identical in both varieties, however an early response was recorded for fantasio, this could indicate that jura presents a better resistance to water stress.

**Keywords :** *Brassica napus* L., drought stress, heterosides, C-glycosides, flavonoid aglycones.

### Abridged English version

The *Brassicaceae* (*Cruciferae*) is a highly interesting family, including about 3709 species and 338 genera. It is one of the ten most economically important plant families (Warwick *et al.* 2009). Indeed, numerous species have a great benefit for human being: industrial oilseed, vegetable, condiment, fodder crop, therapeutic effect...

The study aims to compare the response of two varieties (jura and fantasio) of rapeseed (*Brassica napus* L.) under drought stress. The plant is annual, widely cultivated in the world for a long time. It has been used for its seeds rich in lipids, and considered as an important source of industrial vegetal oil.

Drought is a major abiotic stress that dramatically limits crop growth and productivity (Wang *et al.* 2001). Thus, it is important to identify the tolerance mechanism of plants to

drought. Exposure of plants to an osmotic stress causes changes in metabolism, which increase the production of secondary metabolites. Flavonoids are ubiquitous in the plant kingdom. They include many groups of compounds and contribute for various plant functions.

Glycosylation is an important step in biosynthesis of flavonoids. Flavonoid aglycones can be O-glycosyl or C-glycosyl position in plant cells. Glycosylation enables molecular stability of different structures, also their transport and compartmentalization in the vacuole (Moreira *et al.* 2007, Xiao *et al.* 2009) and makes them more soluble and less toxic.

Flavonoids generally contribute to the protection against stresses and present antioxidant activities that participate in the protection process.

In the present study, we investigated the hydric deficit effect on various molecules of flavonoids. We did an analysis of the total heterosides and of two classes of

flavonoid aglycones ; O-glycosides and C-glycosides were performed to compare flavonoid composition between the two varieties after drought stress.

Water is a significant limiting factor. Drought causes a decrease in relative water content (RWC) (Albouchi *et al.* 2000). Water stress has an incidence on morphological, physiological, biochemical and molecular changes that reduce plant growth and productivity (Wang *et al.* 2001). The status of the water was estimated by the RWC. For the control young plants, the RWC remains stable during the experimentation, exceeding 96%. Comparison between the evolution of RWC of the two studied varieties showed a decrease of this parameter with the intensity of the stress. The RWC of fantasio variety started to decrease from the 4th day, while the RWC of jura began to fall from the 6th day. In general, water stress reduces RWC. This parameter is important as an indicator of drought stress.

Flavonoid metabolism appears to be affected by various biotic and abiotic stresses. We followed the evolution of different flavonoid classes such as total heterosides, C-glycosides and flavonoid aglycones under drought stress. We observed a progressive accumulation of flavonoids for both varieties under drought stress. The analysis of flavonoid glycosides indicates significant accumulation of this class under water deficit with an increase of C-glycosides and flavonoid aglycones (derived from the hydrolysis of the O-glycosides). However, the variation of these different parameters appears more in advance in fantasio variety, jura variety resists two days more than fantasio. We observed a significant accumulation peak of flavonoid heterosides, flavonoid aglycones and C-glycosides after 6 days of stress for fantasio and after 8 days for Jura.

The decrease of the RWC is correlated with the increase of flavonoids. During drought stress, it was recorded that an increase of contents in flavonoid compounds would indicate their stimulation during a stress. This increase always

remains more important in the jura variety, which resist for two days more.

These results could be explained as follow:

- The stimulation of the gene synthesis, which was demonstrated by the quantification of flavonoid aglycones. The accumulation of aglycones, particularly flavonols, may be the result of an important biosynthesis, probably due to stimulation of specific genes. A stimulation of the activity of glycosyl-transferases was observed (Senthil-Kuma *and al.* 2010).

- Some studies have shown the stimulation of C-glycosyl transferases or UGTs (Uridine 5'-diphospho-Glucuronosyl Transferase) during water stress. Many others have demonstrated the role of the UGTs (involved in O-glycosylation) during a drought stress (Langlois-Meurinne *et al.* 2005, Zabala *et al.* 2006, Simone *et al.* 2007, Lorenc-Kukula *et al.* 2009). This could explain the high accumulation of glycosylated flavonoids.

Flavonoids has an important role in the interactions between plants and their biotop. Gitz *et al.* (2004) showed that the flavonoid-deficient mutants were more sensitive to abiotic stresses, specifically to water stress. In addition, flavonoid genes appear to be stimulated by water deficit (Pourcel *et al.* 2006). However, the exact role of these metabolites remains poorly understood.

Among defense responses of plants under environmental stress, there is the synthesis of molecules having antioxidant character like flavonoids, which can explain their accumulation during difficult times.

Our results indicate that jura variety presents a better response and resistance to drought stress conditions. This response is probably linked to the strong accumulation of flavonoids (flavonoids heterosides, flavonoid aglycones and C-glycosides) and consequently to their antioxidant capacity.

## INTRODUCTION

En Algérie, les précipitations sont aléatoires et les sécheresses imprévisibles et sévères. Le pays est constitué majoritairement de régions arides ; les zones agricoles n'occupant qu'une faible partie de la superficie totale (Remini 2005 ; Berthoumieu 2006). Face à un manque d'eau et une salinité accrue de certaines terres, le développement de l'agriculture est menacé. La recherche de plantes adaptées à la sécheresse est un enjeu fondamental pour la production agricole dans les prochaines décennies.

Actuellement, le manque de production en huile végétale fait que l'Algérie connaît un important déficit en huiles alimentaires et tourteaux. Il est donc important de développer des plantes à caractères oléagineux.

Le colza (*Brassica napus* L.) est une plante annuelle, cultivée depuis très longtemps, principalement pour ses graines riches en lipides (environ 45% de la graine) et en protéines (environ 20% de la graine).

La stimulation des voies métaboliques secondaires constitue une part importante des stratégies de lutte de la plante lors d'un stress. L'induction de l'expression des gènes du métabolisme des phénylpropanoïdes va conduire à la synthèse de nombreux composés phénoliques aux fonctions aussi variées qu'essentielles. Nous avons mené notre étude sur diverses molécules du métabolisme flavonique plus précisément les flavonoïdes.

Dans ce contexte, il nous a paru intéressant de faire une comparaison de la composition phénolique établie entre deux variétés de colza (jura et fantasio), après application d'un stress hydrique par arrêt d'arrosage. L'étude porte sur l'analyse des hétérosides totaux ainsi que l'étude séparée des C-glycosides et des aglycones flavoniques (issus de l'hydrolyse des O-glycosides).

Le but du présent travail est de comparer les réponses de ces deux variétés face à un stress hydrique, d'essayer d'identifier les mécanismes de résistance mis en place par les deux variétés afin de mettre en évidence la variété susceptible de mieux réagir en condition de déficit hydrique.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel végétal

Cette étude a été effectuée sur des plantules de colza *Brassica napus* L., variété fantasio et jura, durant l'année 2010-2011.

### Mise en culture

Les graines de colza sont soumises à une lixiviation et mises à imbiber. Ces dernières sont ensuite mises à germer dans des bacs. Dès la percée de la radicule, les graines germées sont placées dans de petits pots de 240 cm<sup>3</sup> remplis d'un substrat à base d'un terreau de type Potgrond Vam. Les plantules sont soumises à une photopériode de 16/8h J/N et à température ambiante.

### Application du déficit hydrique

Les plantules sont arrosées quotidiennement jusqu'au 14<sup>ème</sup> jour de croissance ; le 15<sup>ème</sup> jour représente le temps T<sub>0</sub>. Au delà du 15<sup>ème</sup> jour, nos expérimentations seront menées sur deux lots subissant deux traitements différents :

Lot 1 : plantules témoins ; alimentation hydrique normale, non limitante

Lot 2 : plantules stressées, subissant des arrêts d'arrosage.

### Prélèvements

Les feuilles sont prélevées après 14 jours de croissance. L'échantillonnage est effectué de la manière suivante :

T<sub>0</sub>, 2, 4, 6, 8, 10 jours d'arrêt d'arrosage pour la variété fantasio.

T<sub>0</sub>, 2, 4, 6, 8, 10, 12 jours d'arrêt d'arrosage pour la variété jura.

### Mesure de la teneur relative en eau (TRE)

Le statut de l'eau de la plante a été évalué par la teneur relative en eau (TRE, %), mesurée selon la méthode de Clark & Mc Caig (1982) et calculée selon la formule de Ladigue (1975). Elle consiste en une détermination du pourcentage d'eau présent dans les feuilles excisées. Les feuilles coupées à la base du limbe sont immédiatement pesées pour obtenir leurs poids frais (*PF*). Elles sont ensuite mises en turgescence cellulaire dans de l'eau distillée, à l'obscurité, pendant 24 heures. Après, elles sont pesées pour avoir le poids de la turgescence (*PT*). Les échantillons sont enfin placés dans une étuve à 60°C pendant 48 heures, ce qui permet l'obtention du poids sec (*PS*).

La teneur relative en eau est exprimée en pourcentage, elle est donnée par la formule suivante:

$$TRE = [(PF - PS) / (PT - PS)] \times 100$$

### Extraction et dosage des hétérosides flavoniques

La technique utilisée est celle de Harborne (1973). Elle consiste en une macération dans une solution hydro-alcoolique à froid (30/70, méthanol/eau) afin d'extraire les hétérosides (O-glycosides et C-glycosides) flavoniques

contenus dans les feuilles. Une courbe étalon est établie à partir d'une solution mère de rutine à 1mg.mL<sup>-1</sup>. Une gamme de concentrations croissantes [5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 µg. mL<sup>-1</sup>] est préparée. La teneur absolue en hétérosides flavoniques est exprimée en mg de rutine. g<sup>-1</sup> MVS.

### Analyse quantitative des flavonoïdes après hydrolyse

La méthode d'analyse utilisée dans notre travail a été mise au point par Lebreton (1967) à partir du protocole de Bate - Smith (1954). Elle s'appuie sur une hydrolyse acide ménagée (HCl 2N) à chaud (40°C) des hétérosides flavoniques, ce qui permet la rupture des liaisons C-O-C- présentes chez les hétérosides.

### Dosage des aglycones flavoniques

La teneur en aglycones flavoniques exprimée en mg de quercétine (flavonol) par g de matière végétale sèche est calculée par la formule suivante :

$$T \text{ (en \% ou mg/g)} = 1,3 \cdot 10^{-2} \Delta DO \cdot V \cdot d / p$$

$\Delta DO$  : densité optique du pic différentiel (DO<sub>AIC13</sub> - DO<sub>MetOH</sub>).

$\epsilon$  : coefficient de la quercétine, égal à 23 000 au pic différentiel.

$M$  : masse molaire de la quercétine, égale à 302g.

$V$  : volume de la solution méthanolique d'aglycones flavoniques (2 mL).

$D$  : facteur de dilution.

$p$  : poids sec du matériel végétal hydrolysé (10 mg).

### Dosage des C-glycosides

Après séparation des C-glycosides à l'aide du butanol et évaporation des extraits, les résidus secs obtenus sont repris par une solution méthanolique pure (2mL),

La lecture des extraits s'établit également à l'aide d'un spectrophotomètre à 340 nm, la teneur absolue en C-glycosides est exprimée en mg d'orientine g<sup>-1</sup> et elle est calculée par la formule suivante (Ouabonzi 1981) :

$$T \text{ (en \% ou mg/g)} = 2,37 \cdot 10^{-2} DO \cdot V \cdot d / p$$

$DO$  : densité optique à 340 nm.

$\epsilon$  : coefficient d'absorption molaire de l'orientine = 18 850.

$M$  : masse molaire de l'orientine = 448 g.

$V$  : volume de la solution méthanolique des C-glycosides.

$d$  : facteur de dilution.

$p$  : poids sec du matériel végétal hydrolysé (10 mg).

### Tests statistiques

Les données sont présentées sous forme d'une moyenne de 6 répétitions  $\pm$  l'erreur standard ou l'écart-type de cette moyenne. Les résultats obtenus ont fait l'objet d'analyse de la variance des moyennes avec les tests ANOVA pour évaluer la signification de l'effet aux différents seuils. Les tests sont calculés à partir de l'application STATISTICA 5,1 pour Windows.

## RESULTATS ET DISCUSSION

L'état hydrique des feuilles de *Brassica napus* a été établi durant toute l'expérimentation par la mesure de la teneur relative en eau des feuilles (TRE). Chez la variété fantasio, les feuilles des plantules stressées ont une TRE de  $98,0 \pm 0,1\%$  au temps  $T_0$  (jour de l'application du stress), celle-ci diminue en fonction de l'intensité du stress atteignant une valeur de  $45,20 \pm 5,50 \%$  au 10<sup>ème</sup> jour d'arrêt d'arrosage avec une différence hautement significative (Fig.1). Chez la variété jura, la TRE des feuilles passe de  $97,00 \pm 0,81 \%$ , au temps  $T_0$  à  $57,00 \pm 0,81\%$  au 10<sup>ème</sup> jour d'arrêt d'arrosage. Cette TRE est de  $49 \pm 1\%$  au 12<sup>ème</sup> jour d'arrêt d'arrosage avec une différence hautement significative par rapport au témoin. La comparaison entre l'évolution de la teneur relative en eau des deux variétés de

colza étudiées a montré que celle-ci diminue en fonction de l'intensité du stress.

L'eau est un élément déterminant pour la croissance des plantes, un déficit hydrique provoque une diminution du contenu relatif en eau (Albouchi *et al.* 2000). Elle constitue donc un facteur limitant non négligeable. Le stress hydrique se traduit par des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui affectent négativement la croissance de la plante et sa productivité (Wang *et al.* 2001). La TRE constitue un paramètre important, il est utilisé comme indicateur de l'état hydrique de la plante en condition de stress. En effet Clark & MacCaig (1982) notent l'importance de l'utilisation de la teneur relative en eau afin d'estimer le statut de l'eau dans la plante et en particulier lors d'un déficit hydrique.

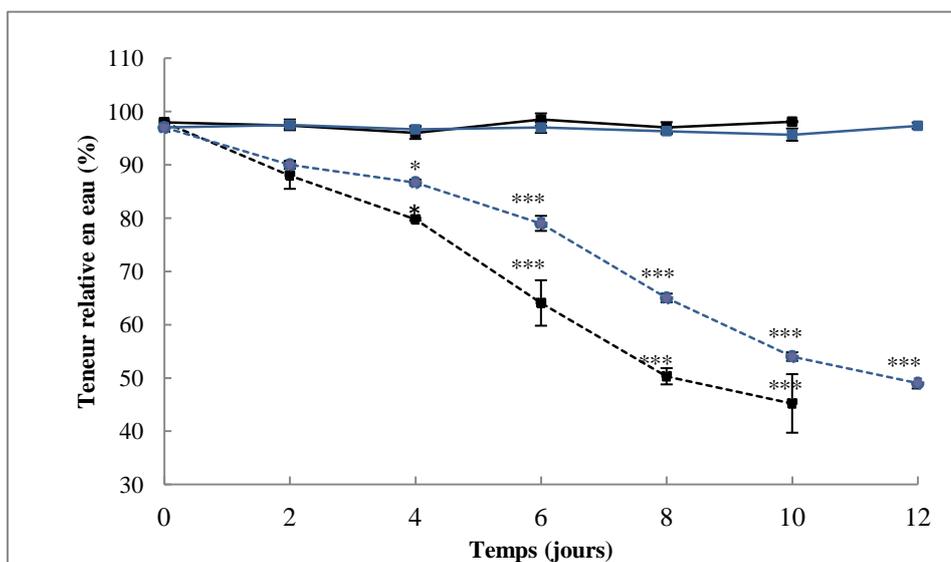


Figure 1. Effet du stress hydrique sur la TRE des feuilles de *Brassica napus*. (Chaque point représente la moyenne de six répétitions différentes. \*P < 0,05 et \*\*\*P < 0,001 représentent le niveau de significativité entre les témoins et les stressées aux différents jours d'arrêt d'arrosage). Fantasio témoin —●— stressé -●- - Jura témoin —▲— stressé -▲- -

Figure 1. Effect of hydric stress on RTW of the leaves of *Brassica napus*. (Each point represents the mean of six repetition. \* P < 0.05 and \*\*\* P < 0.001 represent the level of significance between control and stressed at different days of stop watering).

### Effet du déficit hydrique sur les hétérosides flavoniques

Les flavonoïdes sont souvent présents dans la cellule sous forme d'hétérosides. Nous avons suivi l'évolution de la teneur en hétérosides flavoniques ainsi que la teneur en C-glycoside et en aglycones flavoniques au cours de l'application d'un déficit hydrique chez les feuilles des deux variétés étudiées.

La Figure 2 montre que durant notre expérimentation, l'évolution de la teneur des hétérosides des feuilles témoins des deux variétés est similaire et stable, égale à  $62,73 \pm 4,62$  mg de rutine  $g^{-1}$  MVS. Au-delà du 2<sup>ème</sup> jour d'arrêt d'arrosage, la teneur en hétérosides augmente progressivement chez les feuilles stressées de fantasio, atteignant au 6<sup>ème</sup> jour une quantité maximale de  $175,22 \pm 4,32$  mg de rutine.  $g^{-1}$  MVS (soit une augmentation de 64,19% par rapport au témoin). La différence est hautement significative. Chez la variété jura, le pic de l'accumulation en

hétérosides est atteint au 8<sup>ème</sup> jour d'arrêt d'arrosage avec une valeur de  $189,43 \pm 3,91$  mg de rutine.  $g^{-1}$  MVS (soit une hausse de 66,69% comparativement au témoin). Au 10<sup>ème</sup> (pour fantasio) et 12<sup>ème</sup> (pour jura) jour d'arrêt d'arrosage, la quantité d'hétérosides flavoniques diminue de manière significative chez les feuilles stressées pour les deux variétés tout en demeurant supérieure à celles des témoins.

### Effet du déficit hydrique sur les C-glycosides

Durant les deux premiers jours d'arrêt d'arrosage, la teneur en C-glycosides des feuilles stressées de fantasio est proche de celle des feuilles témoins.

Cette teneur commence à augmenter à partir du 4<sup>ème</sup> jour de déficit hydrique pour atteindre son maximum au 6<sup>ème</sup> jour où nous enregistrons une augmentation de 60 % par rapport au témoin. Les différences sont hautement significatives (Fig. 3).

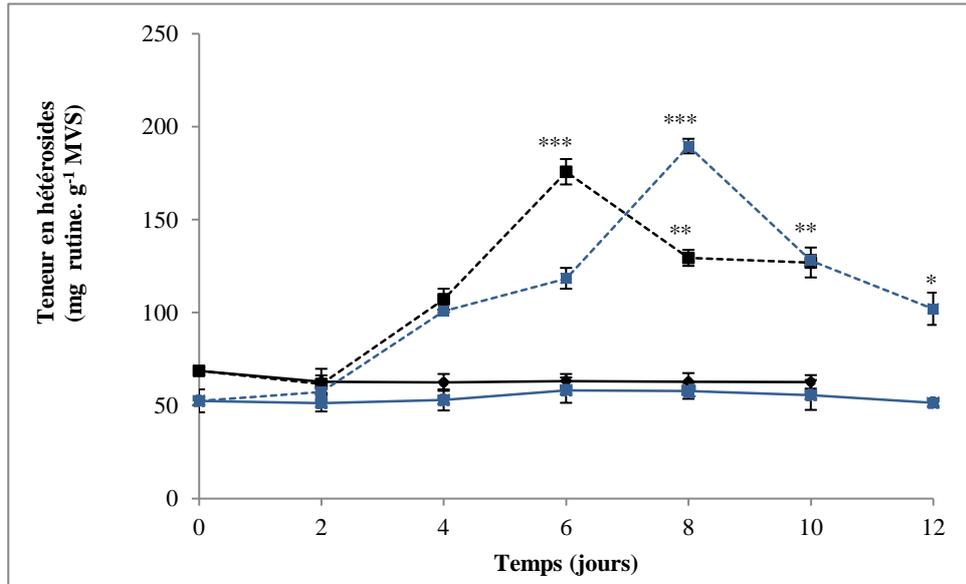


Figure 2. Effet du stress hydrique sur la teneur en hétérosides flavoniques des feuilles de *Brassica napus*. (Chaque point représente la moyenne de six répétitions différentes. \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$  et \*\*\* $P < 0,001$  représentent le niveau de significativité entre les témoins et les stressées aux différents jours d'arrêt d'arrosage). Fantasio témoin —●— stressé - -■- - Jura témoin —▲— stressé - -■- -

Figure 2. Effect of hydric stress on flavonoid heterosides of the leaves of *Brassica napus*. (Each point represents the mean of six repetition. \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$  et \*\*\* $P < 0,001$  represent the level of significance between control and stressed at different days of stop watering)

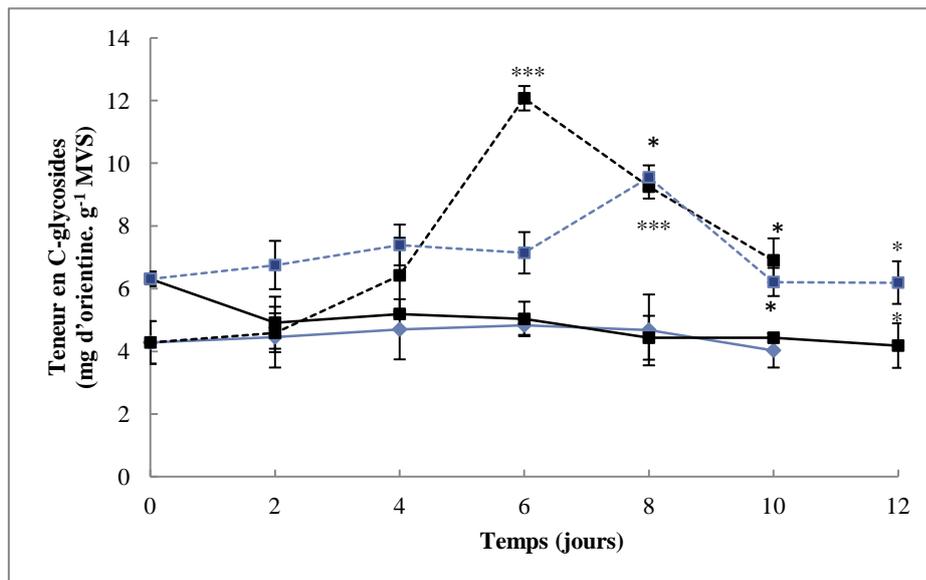


Figure 3. Effet du stress hydrique sur la teneur en C-glycosides des feuilles de *Brassica napus*. (Chaque point représente la moyenne de six répétitions différentes. \* $P < 0,05$  et \*\*\* $P < 0,001$  représentent le niveau de significativité entre les témoins et les stressées aux différents jours d'arrêt d'arrosage). Fantasio témoin —●— stressé - -■- - Jura témoin —▲— stressé - -■- -

Figure 3. Effect of hydric stress on C-glycosides of the leaves of *Brassica napus*. (Each point represents the mean of six repetition. \* $P < 0,05$  et \*\*\* $P < 0,001$  represent the level of significance between control and stressed at different days of stop watering)

Dès le début de l'expérimentation la teneur en C-glycosides des feuilles stressées de la variété jura est supérieure à celle des témoins. Elle reste stable durant les 6 premiers jours d'arrêt d'arrosage. Au-delà, la teneur en C-glycosides augmente de manière hautement significative,

atteignant son maximum au 8<sup>ème</sup> jour, avec une hausse de 53% par rapport au témoin. Au 10<sup>ème</sup> et 12<sup>ème</sup> jour selon la variété, nous observons une réduction de la quantité en C-glycosides de manière significative chez les feuilles stressées.

### Effet du déficit hydrique sur les aglycones flavoniques

Les résultats obtenus chez les feuilles témoins des deux variétés, indiquent que la teneur en aglycones flavoniques varie très peu au cours de notre expérimentation. Elle a une valeur de  $5,28 \pm 0,05$  mg. g<sup>-1</sup> de MVS chez fantasio et de  $8,22 \pm 0,23$  mg. g<sup>-1</sup> de MVS chez jura (Fig. 4).

En présence de stress hydrique, nous observons une augmentation des teneurs en aglycones dès le 4<sup>ème</sup> jour d'arrêt d'arrosage pour fantasio et le 6<sup>ème</sup> jour pour jura.

Cette teneur continue d'augmenter chez les deux variétés atteignant des quantités maximales de  $15,3 \pm 0,12$  mg.g<sup>-1</sup> de MVS au 6<sup>ème</sup> jour d'arrêt d'arrosage pour fantasio (soit une hausse de 66,14 %) et de  $19,3 \pm 0,4$  mg.g<sup>-1</sup> de MVS pour jura au 8<sup>ème</sup> jour (soit une augmentation de 55,54%). Nous notons une différence hautement significative par rapport aux feuilles témoins. A partir du 8<sup>ème</sup> jour, cette teneur est considérablement réduite chez les deux variétés.

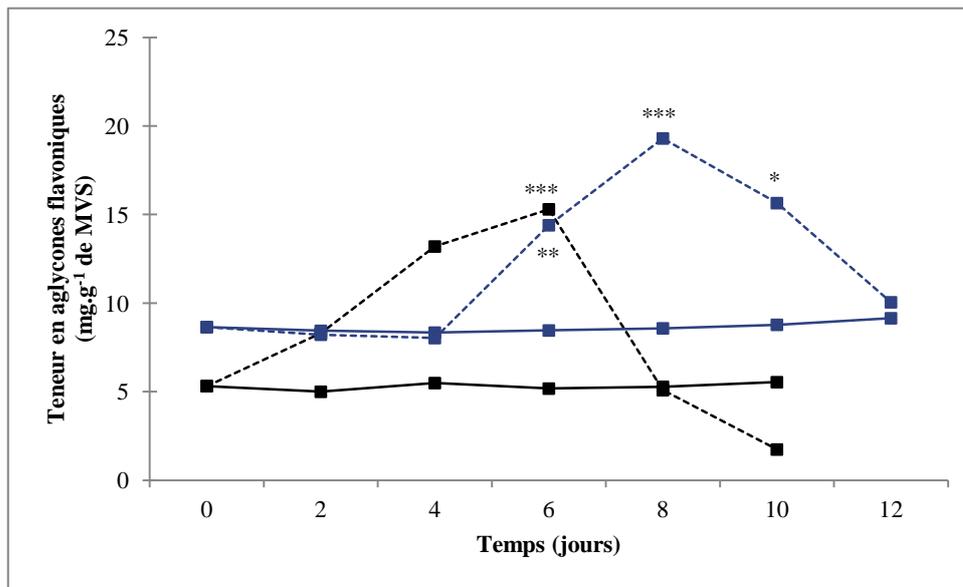


Figure 4. Effet du stress hydrique sur la teneur en aglycones flavoniques des feuilles de *Brassica napus*. (Chaque point représente la moyenne de six répétitions différentes. \*P <0,05, \*\*P <0,01 et \*\*\*P <0,001 représentent le niveau de significativité entre les témoins et les stressées aux différents jours d'arrêt d'arrosage). Fantasio témoin —●— stressé -●- - Jura témoin —▲— stressé -▲- -

Figure 4. Effect of hydric stress on flavonoic aglycones of the leaves of *Brassica napus*. (Each point represents the mean of six repetition. \*P <0,05, \*\*P <0,01 et \*\*\*P <0,001 represent the level of significance between control and stressed at different days of stop watering)

### Discussion

La comparaison entre l'évolution de la teneur relative en eau des deux variétés de colza étudiées a montré que celle-ci diminue en fonction de l'intensité du stress. La TRE traduit la diminution de la turgescence cellulaire qui entraîne la diminution de la croissance. Tout au long de notre expérimentation, l'effet du stress hydrique sur la TRE est décalé de deux jours chez la variété jura par rapport à la variété fantasio. La teneur relative en eau peut donc nous indiquer la sensibilité de la plante face au manque d'eau.

L'analyse des hétérosides flavoniques totaux indique une accumulation importante de cette classe en présence d'un déficit hydrique avec une augmentation des C-glycosides et des aglycones flavoniques. Les aglycones flavoniques (flavonols) sont généralement glycosylés dans les cellules végétales. La glycosylation peut se faire en position O-glycosyl ou C-glycosyl. Elle rend ces molécules plus solubles et moins toxiques (Xiao *et al.* 2009). La glycosylation est une étape importante dans la biosynthèse des flavonoïdes, elle permet la stabilité moléculaire des différentes structures ainsi que leur transport et leur

compartimentation dans la vacuole (Moreira *et al.* 2007 ; Xiao *et al.* 2009).

En cas de stress hydrique, nous avons constaté une accumulation des hétérosides flavoniques totaux avec une augmentation des C-glycosides et des aglycones flavoniques ; cela pourrait être expliqué par :

1) Une stimulation de la synthèse des génines, qui a été mise en évidence par les dosages des aglycones flavoniques. L'accumulation des aglycones, et particulièrement celle des flavonols, peut être la résultante d'une biosynthèse importante, probablement due à une stimulation des gènes menant à leur synthèse. Chez *Arabidopsis*, les protéines MYB sont impliquées dans le contrôle transcriptionnel du métabolisme des flavonols. Les protéines MYB11, MYB12, MYB111 activent les gènes structuraux menant à la synthèse des flavonols, à savoir la CHS, CHI, F3H et FLS. Ces gènes (MYB) peuvent être induits par des stimuli environnementaux. Plusieurs facteurs de transcription MYB liés aux bZIP type ont été identifiés comme régulant la biosynthèse des flavonols et seraient eux-mêmes soumis à un contrôle transcriptionnel (Strake *et al.* 2001 ; Olsen *et al.* 2009).

2) Une stimulation de l'activité des différentes glycosyl-transférases (Senthil-Kumar *et al.* 2010). Concernant l'activité des glycosyl-transférases, peu de travaux montrent la stimulation des C-glycosyl-transférases lors d'un stress hydrique. En revanche, plusieurs études ont démontré l'intervention de l'UGTs (Uridine 5'-diphospho-Glucuronosyl Transferase) (impliquées dans les O-glycosylations) dans un stress hydrique (Langlois-Meurinne *et al.* 2005, Zabala *et al.* 2006, Simone *et al.* 2007, Lorenc-Kukula *et al.* 2009). Chez *Arabidopsis thaliana*, les flavonols sont généralement glycosylés en position 3-OH et 7-OH. La 3-O-glycosylation est considérée comme la première étape de la conjugaison suivie par la 7-O-glycosylation. Il semblerait que la 7-O-glycosylation soit plus importante que la 3-O-glycosylation lors d'un stress hydrique (Veit & Pauli 1999, Bloor & Abrahams 2002, Jones *et al.* 2003, Tohge *et al.* 2005, Yonekura *et al.* 2007 et 2008). D'autres études effectuées chez *Nicotiana benthamiana* ont montré le rôle d'un gène: flavonol-3-O-glycosyl transférase (F3OGT) et son implication à la tolérance au déficit hydrique (Senthil-Kumar *et al.* 2007).

## CONCLUSION

La présente étude nous a permis de comparer l'effet du stress hydrique sur le statut hydrique et la composition flavonique (teneur en hétérosides flavoniques, en C-glycosides et en aglycones flavoniques) de deux variétés de *Brassica napus* (jura et fantasio). L'importante accumulation des C-glycosides lors d'un déficit hydrique pourrait être expliquée par la grande stabilité structurale de ces molécules et leur pouvoir antioxydant (Xiao *et al.* 2014).

Les flavonoïdes sont des molécules qui constituent très souvent la clé de voûte du système d'interactions entre les plantes et leur environnement. Plusieurs auteurs montrent leur implication lors de stress environnementaux. Gitz *et al.* (2004) ont montré que les mutants déficients en flavonoïdes étaient plus sensibles aux stress abiotiques, plus précisément au stress hydrique. De plus, les gènes des flavonoïdes semblent être stimulés lors d'un déficit hydrique (Pourcel *et al.* 2006). Cependant, le rôle exact de ces métabolites dans les divers stress reste peu élucidé.

La diminution de la TRE est corrélée par une augmentation des composés flavoniques. En condition de stress hydrique, il a été enregistré une augmentation des teneurs en composés flavoniques, ce qui indiquerait leur stimulation lors d'un stress. Cette augmentation est toujours plus importante chez la variété jura, qui résiste deux jours de plus au manque d'eau. Toutefois, les variations des divers paramètres apparaissent plus précocement chez la variété fantasio.

## REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements à l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) d'Oued Smar (Alger) qui a eu l'amabilité de nous fournir les graines de colza (var fantasio et jura).

## REFERENCES

- Albouchi A., Sebei H., Mezni M.Y. & El Aouni M.H. 2000. Influence de la durée d'une alimentation hydrique déficiente sur la production de biomasse, la surface transpirante et la densité stomatique d'*Acacia cyanophylla*. *INRGREF Annals* 4, 138-161.
- Bate Smith 1954. Leuco-anthocyanins. I-Detection and identification of anthocyanidins formed from leuco-anthocyanins in plant tissues. *Biochem Journal*, 58, 122-125.
- Bloor S.J. & Abrahams S. 2002. The structure of the major anthocyanin in *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry* 59, 343-346.
- Clarck J.M & Mac-Caig T.N. 1982. Excised leaf water relation capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. *Canada Journal Plant Science* 62, 571-576.
- Gitz D.C., Liu-Gitz J., McClure W. & Huerta A.J. 2004. Effect of PAL inhibitor on phenolic accumulation an UV-B tolerance in *Spirodela intermedia* (Koch.). *Journal of experimental Botany* 55, 919-927.
- Harborne J.B. 1973. *Phytochemical methods, a guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman & Hall (eds), London. 278 p.
- Jones P., Messner B., Nakajima J. *et al.* 2003. UGT73C6 and UGT78D1, glycosyltransferases involved in flavonol glycoside biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry* 278, 43910-43918.
- Ladigues P.V. 1975. Some aspect of tissue water relations in three populations of *Eucalyptus viminalis* Labill. *New Phytology* 69, 501-513.
- Langlois-Meurinne M., Gachon C.M.M. & Saindrenan P. 2005. Pathogen-responsive expression of glycosyltransferase genes UGT73B3 and UGT73B5 is necessary for resistance to *Pseudomonas syringae* pv tomato in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 139, 1890-1901.
- Lebreton Ph., Jay M., Voirin B. & Bouchez M.P. 1967. Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. *Chimie Analytique France* 49, 375-383.
- Lorenc-Kukula K., Zuk M., Kulma A. *et al.* 2009. Engineering flax with the GT family 1 *Solanum* soganandinum glycosyltransferase SsGT1 confers increased resistance to *Fusarium* infection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 6698-6705.
- Moreira M.R., Kanashiro A., Kabeya L.M. *et al.* 2007. Neutrophil effector functions triggered by Fc-gamma and/or complement receptors are dependent on B-ring hydroxylation pattern and physicochemical properties of flavonols. *Life Sciences* 81, 317-326.
- Olsen K.M., Lea U.S., Slimestad R. & Verhuel M. 2007. Differential expression of four *Arabidopsis* PAL genes; PAL have functional specialization in abiotic environmental-triggered flavonoid synthesis. *Journal of plant physiology* 165, 1491-1499.
- Olsen K.M., Slimestad R., Lea U.S. *et al.* 2009. Temperature and nitrogen effects on regulators and products of the flavonoid pathway: Experimental and kinetic model studies. *Plant Cell and Environment* 32, 286-299.
- Ouabonzi A. 1981. *Contribution à l'étude phytochimique de Gnetum africanum* Welw. *et de Gnetum buchholzianum* Engl. Thèse Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Lyon I. 126 p.
- Pourcel L., Routaboul J.M., Cheynier V. *et al.* 2006. Flavonoid oxidation in plant: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science* 12 (1), 1360-1385.

- Remini B. 2005. *La problématique de l'eau en Algérie*. OPU (eds), Algérie. 162 p.
- Senthil-Kumar M., Govind G., Kang L. *et al.* 2007. Functional characterization of *Nicotiana benthamiana* homologs of peanut water deficit-induced genes by virus-induced gene silencing. *Planta* 225, 523-539.
- Senthil-Kumar M., Mysore K.S. 2010. Assessing functional role of three deficit stress-induced genes in nonhost resistance using virus-induced gene silencing in *Nicotina benthamiana*. *Plant Signaling and Behavior* 5, 586-590.
- Simone D.C., Antonella P., Paolo S. *et al.* 2007. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant Cell Environment* 30, 1381-1399.
- Stracke R., Werber M. & Weisshaar B. 2001. The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Current Opinion in Plant Biology* 4, 447-456.
- Stracke R., Ishihara H., Barsch G.H.A. *et al.* 2007. Differential regulation of closely related R2R3-MYB transcription factors controls flavonol accumulation in different parts of the *Arabidopsis thaliana* seedling. *Plant Journal* 50, 660-677.
- Tohge T., Nishiyama Y. & Hirai M.Y. 2005. Functional genomics by integrated analysis of metabolome and transcriptome of *Arabidopsis* plants over-expressing an MYB transcription factor. *The Plant Journal* 42, 218-235.
- Veit M. & Pauli G.F. 1999. Major flavonoids from *Arabidopsis thaliana* leaves. *Journal of Natural Products* 62, 1301-1303.
- Wang W.X., Vinocur B., Shoseyov O. & Altman A. 2001. Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. *Acta Horticulturae* 560, 285-292.
- Warwrik S.I., Francis A. & Gugel R.K. 2009. Guide to wild germplasm of Brassica and Allied crops (Tribe Brassiceae, Brassicaceae): Introduction, 3<sup>rd</sup> (eds), Canada. 305 p.
- Xiao J., Cao H., Wang Y. *et al.* 2009. Glycosylation of dietary flavonoids decrease the affinities for plasma protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 6642-6648
- Xiao J., Muzashvili T.S. & Geogiev MIN. 2014. Advances in the biotechnological glycosylation of valuable flavonoids. *Biotechnoly Advances* 26.
- Yonekura-Sakakibara K., Tohge T., Niida R. & Saito K. 2007. Identification of a flavonol 7-O-rhamnosyltransferase gene determining flavonoid pattern in *Arabidopsis* by transcriptome coexpression analysis and reverse genetics. *Journal of Biological Chemistry* 282, 14932-14941.
- Yonekura-Sakakibara K., Tohge T., Matsuda F. *et al.* 2008. Comprehensive flavonol profiling and transcriptome coexpression analysis leading to decoding gene-metabolite correlations in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 20, 2160-2176.
- Zabala G., Zou J., Tuteja J. *et al.* 2006. Transcriptome changes in the phenylpropanoid pathway of *Glycine max* in response to *Pseudomonas syringae* infection. *BioMed Central Plant Biology* 6, 26-34.

#### Sites web

- Berthoumieu J.F. 2006. Le changement climatique et ses conséquences sur la ressource en eau. Quelles solutions pour une solution durable ? *ACMG* [www.acmg.asso.fr](http://www.acmg.asso.fr).

Manuscrit reçu le 08/07/2014  
Version révisée acceptée le 05/03/2015  
Version finale reçue le 10/03/2015  
Mise en ligne le 25/03/2015