

Effets des stress hydrique et osmotique sur l'accumulation de proline et de malondialdéhyde (MDA) chez deux variétés de colza (*Brassica napus* L.)

*Effects of water and osmotic stress on the accumulation of proline and malondialdehyde (MDA) in two varieties of colza (*Brassica napus* L.)*

Mohamed TOUMI^{1*}, Selma BARRIS² & Fatiha AID³

USTHB, LBPO, Faculté des Sciences Biologiques, Bab Ezzouar, Algérie. *(t_med@hotmail.com)

Résumé. Les plants de deux variétés (*fantasio* et *jura*) de colza (*Brassica napus* L.), sont soumis à un stress hydrique par l'arrêt d'arrosage et à un choc osmotique induit par des concentrations croissantes en polyéthylène glycol (PEG). L'application de ces stress provoque des réponses chez les deux variétés. Dans des conditions favorables, une teneur relative en eau (TRE) élevée et constante, ainsi que des taux faibles et invariables de proline et de malondialdéhyde (MDA), sont observés chez les deux variétés. La TRE chute en conditions de stress ; cette diminution est plus rapide et plus importante chez la variété *jura* en fonction de l'intensité du stress. Une peroxydation lipidique est observée chez les deux variétés. L'augmentation du taux de malondialdéhyde est beaucoup plus importante chez la variété *jura*, chez qui les dommages sur les membranes sont plus importants, alors qu'une accumulation plus importante de proline est observée chez la variété *fantasio*. La variété *fantasio* affiche une meilleure résistance au stress hydrique.

Mot-clés : *Brassica napus* L., stress hydrique, choc osmotique, peroxydation lipidique, proline.

Abstract. Plants of two varieties (*fantasio* and *jura*) of colza (*Brassica napus* L.) are subjected to water stress by cutting off water and to osmotic shock induced by increasing concentrations of polyethylene glycol (PEG). Both varieties are sensitive to these stresses. Under favorable conditions, they have constant and high relative water content (RWC), as well as low and invariable level of proline and MDA. The RWC falls under stress conditions ; this decrease is faster and greater in the variety *jura* according to the intensity of the stress. Lipid peroxidation was observed in the two varieties. The increase of malondialdehyde is much higher in the variety *jura*, in which damage to the membranes is greater, while a huge accumulation of proline was observed in the *fantasio* variety that nevertheless shows a better resistance.

Keywords : *Brassica napus* L., water stress, osmotic shock, lipid peroxidation, proline.

Abridged English version

Introduction

Drought, as an environmental stress, causes damages to agricultural production. The water stress reduce essentially the growth and the photosynthetic activity of the plant and can affect performance and even causes plant death as well if the stress persists (May & Milthorpe 1962). Water deficit induces also oxidative stress with the formation of free radicals. By their unstable nature these active forms of oxygen are very harmful to the cellular constituents, in particular for membrane lipids (Wecks & Clijesters 1996).

The maintenance of cell turgor is an effective way to resist to the water stress. This mechanism results of increase on osmotic potential due to osmolytes accumulation in the cytoplasm (Cushman & Bohnert 2000). The accumulation of proline in the cell following the cytoplasmic osmoregulation is one of the adaptive strategies frequently observed in plants to face effects of the water stress (Acevedo *et al.* 1989).

Algeria is essentially constituted of arid and semi-arid lands; agricultural areas present only a lower percentage of the total surface. The Ministry of Agriculture estimates that the useful surface is around 8.1 million ha. Despite the importance of olive oil production in Algeria (Benassi & Labonne 2004), the country does not produce enough vegetable oil to respond to the high and significant demand,

so the import from abroad continually increases from 200 000 tons in 1980 to 320 000 tons in 2001. To achieve self-sufficiency in edible oil or at least to reduce the import, we must introduce oilseed crops. *Brassica napus* is an annual plant of *Brassicaceae* family whose seeds contain about 40% of good oil quality nutritious and 56% of oilcake rich in protein, used as food for livestock.

The ability to quantify the performance of crop water-stressed plants is very important in research programs to rehabilitate and improve agricultural production in semi-arid regions.

Aims

In the present study, we try to investigate the effect of drought and osmotic stress on the osmoregulation and the level of membrane degradation in two varieties of rape (*fantasio* and *jura*), in order to eventually identify which the variety presents the best profile of adaptation to water deficit.

Material and Methods

Application of water stress:

Germinated seeds of both varieties are planted in large pots of 15.12 liters of volume containing a mixture of soil and manure arranged in a greenhouse. From the fourth month of cultivation, the pots are separated into two lots ? :

a first lot of controlled plants regularly watered ; a second lot of the stressed plants that remains non-watered during 18 days.

Application of osmotic stress:

Germinated seeds of both varieties were growing in small pots of 240 cm³ filled with soil and lit with neon lights during 16 hours a day in the laboratory. At 4-leaf stage seedlings are uprooted the roots were rinsed and the intact plants were placed in water for 24 hours, then in different concentrations of the PEG solutions (0%, 1% and 5%) during 48 hours.

Results

Our results showed that the RWC (relative water content) of controlled plants of the two varieties of rape (*Brassica napus*) remains constant and are superior to 95%.

In stressed plants, when PEG 6000 was externally added to the lots, the RWC of both varieties decrease significantly. The osmotic pressure of external environment decreases the water content of the cells. The diminution of RWC does not happen at the same rate and intensity in both varieties. "Jura" variety for instance, during an osmotic stress induced by 1% PEG, presents a better resistance to early stress and RWC decreases only after 24 hours of stress. In condition of higher stress (5% PEG), the RWC decreases significantly after 48 hours of experimentation. The external osmotic pressure decreases the water content in the whole plant, causing a decrease in the mobility of nutrients.

Water deficit induces oxidative stress with the formation of oxygen reactive forms; the malondialdehyde (MDA) is one of the final products of the peroxidation of membrane lipids. This peroxidation is the most result attributed to oxidative damage; it is often used as an indicator of oxidative stress. An increase of MDA accumulation,

proportional to the duration and the intensity of the stress, is registered in the two varieties in parallel with the decrease on relative water content of the stressed leaves (osmotic stresses).

The increase of MDA content was followed by an accumulation of proline in two varieties. This accumulation is greater and more regular in "fantasia" variety in both stresses.

Discussion and conclusion

A decrease of relative water content during the stress was observed in both varieties, the "jura" variety seems to be the most affected by osmotic stress with more rapid and greater decrease in relative water content of leaves according to stress intensity.

An accumulation of proline according to the intensity of water and osmotic stresses was observed in both stressed plant varieties, but this accumulation is faster and more important in "fantasia" variety in terms of significant stress which could indicate a better osmotic adjustment in this variety.

The malondialdehyde (MDA) is one of the final products of peroxidation of the membrane lipids (Guichardant *et al.* 1994). During applied stresses, a lipid peroxidation was observed in the two varieties. The increase of MDA is higher on "jura" variety, which presents more membrane sensitivity under stress conditions.

In conditions of water stress induced by the lack of water and osmotic stress induced by different concentration of PEG 6000, the variety "fantasia" presents a better adapted profile with:

- Slower decreasing in relative water content in the leaves
- A higher and faster proline accumulation
- Less important membrane peroxidation.

INTRODUCTION

La sécheresse et la salinité du sol sont les contraintes environnementales qui causent le plus de dommage aux productions agricoles. En effet, chaque année les surfaces perdues à cause des stress hydrique et salin sont considérables. Un milliard d'hectares sont menacés dans le monde dont 3,2 millions en Algérie (Belkhodja & Bidai 2004).

D'après Casals (1996), la sécheresse peut être définie correctement en considérant la disponibilité et les besoins en eau de la plante. Les plantes sont souvent soumises à de graves déficits hydriques dus à une chute brutale de l'humidité ou à une augmentation de la température. La rareté des pluies ou des pluviosités trop espacées peuvent également induire un stress hydrique du fait de la diminution de la quantité d'eau dans le sol.

Les conséquences du stress hydrique sont essentiellement une diminution de la croissance ainsi qu'une réduction de l'activité photosynthétique, affectant ainsi le rendement et provoquant la mort de la plante si le stress perdure (May & Milthorpe 1962). Le déficit hydrique induit également un stress oxydatif avec la formation de radicaux libres. Par leur nature instable, ces formes actives d'oxygène sont très nocives pour les constituants cellulaires en

particulier pour les lipides membranaires (Thompson *et al.* 1987 ; Weckx & Clijsters 1996).

Le maintien de la turgescence cellulaire est un moyen efficace pour résister au stress hydrique. Ce mécanisme se traduit par une augmentation du potentiel osmotique grâce à une accumulation d'osmolytes dans le cytoplasme (Smirnov 1998 ; Cushman & Bohnert 2000). Les modalités d'ajustement osmotiques varient en fonction de la variété et de l'intensité du stress appliqué (Morgan 1984 ; Blum 1988). La proline est la molécule organique la plus accumulée chez les organismes lors d'un stress (Nakashima 1998). Son accumulation dans l'organisme, liée à l'osmorégulation cytoplasmique, est l'une des stratégies adaptatives fréquemment observées chez les plantes pour limiter les effets du stress hydrique (Acevedo *et al.* 1989).

L'Algérie est un pays essentiellement désertique dont les superficies agricoles n'occupent qu'un faible pourcentage de la superficie totale ; la superficie agricole utile est de l'ordre de 8,1 millions d'ha selon le ministère de l'agriculture.

Notre pays connaît un important déficit en huiles alimentaires et en tourteaux. La demande est croissante et les importations vont continuer à augmenter, et ce malgré l'accroissement potentiel de la production locale en huile

d'olive (Benassi & Labonne 2004). Le colza (*Brassica napus* L.) est une plante annuelle herbacée de la famille des *Brassicaceae*. Ses graines contiennent environ 40% d'huile de bonne qualité nutritive et 56% de tourteau, riche en protéines (40% de la matière sèche) et utilisé pour l'alimentation animale.

Dans le présent travail, nous avons cherché à étudier les effets des stress hydrique et osmotique sur l'osmorégulation en mesurant l'accumulation de proline et sur le niveau de dégradation des membranes par la mesure du taux de MDA, chez deux variétés de colza (*fantasio* et *jura*) au stade levée, dans le but d'identifier éventuellement la variété qui présenterait le meilleur profil d'adaptation face à la rareté de l'eau.

MATERIEL ET METHODES

Obtention des plantules

Les semences de deux variétés de colza (*fantasio* et *jura*), fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC Algérie), sont mises à tremper dans des béciers d'une hauteur de 7cm et d'un diamètre de 4,5 cm, que l'on recouvre de gaze ; l'ensemble est déposé sous un filet d'eau pendant trois heures. Cette technique permet une bonne imbibition et une bonne oxygénation des graines pour éviter que les substances phénoliques présentes dans les téguments jouent le rôle de piège à oxygène. La mise en germination des semences a été réalisée pendant 4 jours sur papier filtre humidifié avec de l'eau du robinet et placé dans de petits bacs en plastique de 20 cm² à raison de 100 graines par bac, à 27°C et à l'obscurité.

Application du stress hydrique

Les graines germées (apparition de la radicule) des deux variétés de colza sont plantées dans de grands pots d'un volume de 12 litres, contenant un mélange de terre et de fumier à volumes égaux disposés dans une serre au niveau du campus universitaire de l'USTHB. Durant les 3 premiers mois de culture (janvier à mars), la croissance des plantes se déroulait normalement avec des températures moyennes entre 15 et 23°C. A partir du quatrième mois de mise en culture (fin mars), les pots sont séparés en deux lots de plantes présentant la même morphologie et le même nombre de feuilles (12 feuilles) :

Un premier lot de plantes témoins arrosées régulièrement avec de l'eau du robinet

Un deuxième lot de pots non arrosés, qui représente les plantes stressées.

Application du stress osmotique

Les graines germées des deux variétés sont mises à croître dans de petits pots de 240 cm³, remplis de terreau et éclairés par 4 néons (Tube fluo Philips TLD 36W 54 765 Lumière du jour 120cm), 16 heures par jour en laboratoire. La température journalière est de 26°C. L'arrosage se fait régulièrement avec de l'eau du robinet. Au stade 4 feuilles, les plantules sont déracinées, les racines sont rincées et mises dans de l'eau du robinet pendant 24 heures, puis dans des solutions de polyéthylène glycol (PEG₆₀₀₀) à différentes concentrations (0%, 1% et 5%) pendant 48 heures.

Statut hydrique des plantules

La mesure du statut hydrique a été réalisée sur les plantules ayant subi un stress osmotique provoqué par différentes concentrations de PEG en laboratoire. Le statut hydrique des plantules est déterminé par leur teneur relative en eau (TRE) qui est mesurée selon la méthode de Clarke et Mc Caing (1982).

Les quatre premières feuilles de la plantule sont pesées ; le poids obtenu correspond au poids de la matière végétale fraîche (PF). Elles sont ensuite mises dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée pendant 24 heures, puis pesées pour avoir le poids à la turgescence (PT). Pour la mesure du poids sec (PS), les feuilles sont placées dans une étuve à 60°C pendant 48 heures. La teneur relative en eau des feuilles est établie selon la formule suivante (Ladigues, 1975): $TRE = \{(PF - PS) / (PT - PS)\} \times 100$

Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Le malondialdéhyde (MDA) est dosé selon la méthode de Heath et Paker (1968), sur 250 mg de matière végétale fraîche, prélevée des quatre premières feuilles et broyée dans de l'azote liquide. Le broyat est suspendu dans 5 ml d'acide trichloroacétique (5% w/v) contenant 1,25% de glycérol. L'homogénat est centrifugé à 12 000 trs/min pendant 10 min et filtré sur papier Wathman n°1. Les surnageants sont récupérés dans des tubes à essais. A 2 ml de surnageant, sont ajoutés 2 ml d'acide thiobarbiturique à 0.67% (préparé dans de l'eau distillée) ; l'ensemble est mélangé au vortex, puis les échantillons sont chauffés 30 min au bain-marie à 100°C, refroidis dans de la glace puis centrifugés pendant une minute (pour éliminer la turbidité). L'absorbance est mesurée à 532 nm puis à 600 nm. Pour éliminer l'absorbance non spécifique, l'absorbance lue à 532 nm sera soustraite à celle lue à 600 nm. La quantité de MDA est calculée en utilisant un coefficient d'extinction molaire de 155 nM⁻¹.cm⁻¹, selon la loi de Beer-Lambert :

Absorbance = $\epsilon \times L \times [C]$ (ϵ : Coefficient d'extinction molaire, L : largeur de la cuve (1cm), $[C]$: Concentration).

Dosage de la proline

La méthode utilisée est celle de Bates *et al.* (1973). Les quatre 1^{ères} feuilles sont broyées dans un mortier, en présence d'azote liquide jusqu'à obtention d'une poudre. A 200 mg de poudre sont ajoutés 3 ml d'acide sulfosalicylique à 3%. Après agitation du mélange au vortex, l'ensemble est centrifugé à 9000 rpm pendant 15 minutes et à température ambiante. Après filtrage, 1 ml d'acide acétique glacial et 1 ml de réactif à la ninydrine (1,25g de ninydrine + 30ml ac acétique cc + 20ml H₃PO₄ (6M)), sont ajoutés à 1 ml du surnageant. Après agitation du mélange au vortex, l'échantillon est porté pendant 1 heure au bain-marie à 90°C ; une coloration rose apparaît. Après refroidissement des tubes, 2 ml de toluène sont ajoutés ainsi qu'une pincée de NaCl pour éliminer l'eau résiduelle. Le mélange est agité au vortex. Après 24 heures de décantation, deux phases apparaissent ; la phase organique supérieure (toluène) renferme la proline.

La teneur en proline est déterminée par spectrophotométrie. La densité optique est mesurée à $\lambda = 515$ nm.

La gamme étalon est préparée avec des concentrations de proline comprises entre 0 et 40 μ mole.L⁻¹

Tests statistiques

Les données sont présentées sous forme d’une moyenne de 3 répétitions ± l’erreur standard ou l’écart-type.

Les résultats obtenus ont fait l’objet d’analyse de la variance des moyennes avec les tests ANOVA à 1 facteur 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

Effets du stress osmotique sur la teneur relative en eau

La teneur relative en eau (TRE) des plants témoins des deux variétés de colza reste constante et supérieure à 95%. Celle des plants stressés des deux variétés baisse considérablement au cours de l’expérimentation (Fig. 1).

Chez la variété *fantasio*, la TRE passe de $80,26 \pm 4,34\%$ à $76,48 \pm 6,12\%$ respectivement après 6 et 24 heures de stress induit par des solutions de PEG à 1% (Fig. 1). La TRE

se stabilise ensuite à $69,48 \pm 4,00\%$ après 48 heures. À 5% de PEG, la TRE chute considérablement et atteint $71,00 \pm 6,24$ après 6 heures de stress. Cette valeur va diminuer progressivement pour atteindre $59,00 \pm 4,56\%$ après 48 heures d’expérimentation.

Nous notons une différence hautement significative au seuil de 0,001 % entre les témoins et les stressés (1% et 5%) durant toute la durée de l’expérimentation.

Chez la variété *jura*, la TRE chute significativement comparativement aux témoins après 6 heures d’expérimentation lorsque le stress est faible (1% de PEG) pour atteindre une valeur de $86,19 \pm 4,45\%$. Cette valeur diminue légèrement après 24 heures de stress et chute significativement après 48 heures pour atteindre $68,67 \pm 3,34\%$. En conditions de stress sévère (5% de PEG), la TRE diminue significativement après 6 heures pour atteindre $77,71 \pm 4,00\%$, puis elle diminue de manière non significative pour atteindre $70,63 \pm 2,27\%$ après 24 heures. La TRE chute ensuite considérablement après 48 heures d’expérimentation pour atteindre $52,93 \pm 3,43\%$ (Fig 1).

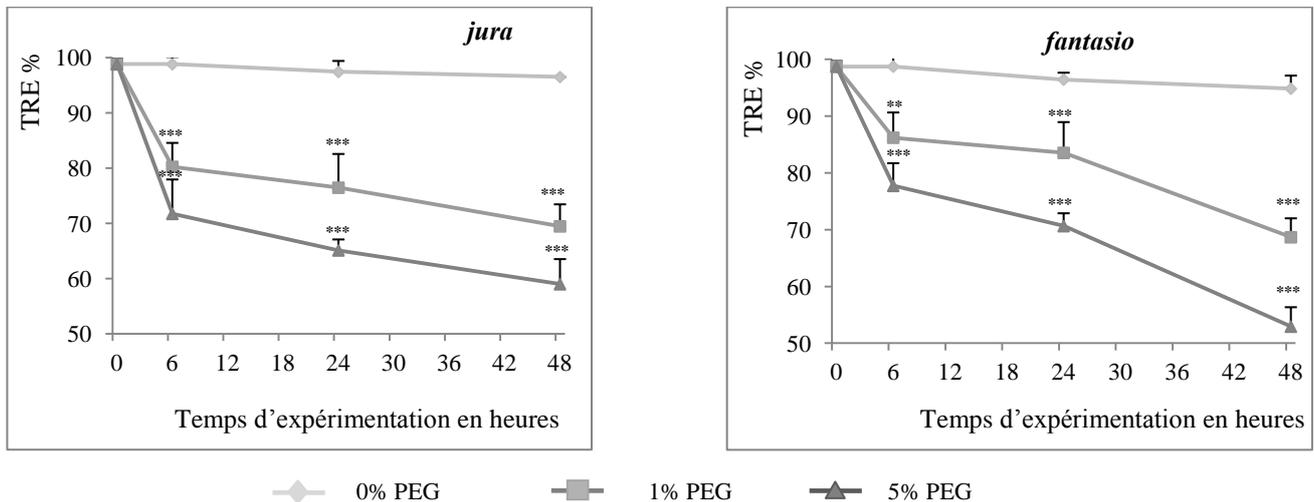


Figure 1 : Évolution de la Teneur Relative en Eau des feuilles témoins et stressées des deux variétés de colza soumises à un choc osmotique provoqué par des concentrations croissantes de PEG 6000. (Chaque point représente la moyenne de trois répétitions différentes. *P <0,05, **P <0,01 et ***P <0,001 représentent le niveau de significativité entre les témoins et les stressées aux différents points de dosage. Les barres verticales indiquent les écarts types).

Figure 1. Evolution of Relative Water Content of witnesses and stressed leaves of two varieties of colza subjected to osmotic shock by increasing concentrations of PEG 6000. (Each point represents the average of 3 replicates ; vertical bars indicate the standard error).

Chez les plantes stressées, la TRE a baissée considérablement au cours du temps d’expérimentation. La forte pression osmotique du milieu extérieur fait diminuer la teneur en eau chez la plante toute entière (Slayter. 1974 ; Sairam *et al.* 2001), entraînant, une diminution de la mobilité des éléments nutritifs. Il y a aussi diminution du volume du milieu aqueux où se passent les réactions biochimiques qui assurent le meilleur développement de la plante. Les molécules d’eau participent directement à de nombreuses réactions biochimiques d’hydrolyse ou de condensation. L’eau est aussi une source d’éléments essentiels pour le métabolisme des végétaux. Sa décomposition fournit différents constituants nécessaires à la biosynthèse des molécules organiques. L’effet dépressif de la carence en eau sur l’état hydrique de la plante peut être irréversible, si la période de stress est prolongée, entraînant

la mort de la plante (El Mourid *et al* 1996 ; Samir 1993 ; Casals 1996).

La diminution de la TRE est plus rapide chez les variétés sensibles que chez les variétés résistantes (Scofield *et al.* 1988). Une TRE élevée dans des conditions de stress a été observée chez le soja (Zeghida *et al.* 2004). Les génotypes qui maintiennent une TRE élevée plus longtemps en présence de stress hydrique sont en général des génotypes tolérants (Nouri 2002).

Effets des stress hydrique et osmotique sur la teneur en malondialdéhyde (MDA)

Parallèlement à la diminution de la teneur relative en eau des feuilles sous l’effet du stress osmotique, une augmentation de la teneur en malondialdéhyde (MDA) a été

en revanche enregistrée chez les deux variétés (Fig. 2. A, 2 B₁ et 2 B₂).

Le déficit hydrique induit un stress oxydatif avec formation de radicaux libres. Le MDA, est l'un des produits finaux de la peroxydation des lipides membranaires (Ohkawa *et al.* 1979 ; Guichardant *et al.* 1994). Cette peroxydation est le symptôme le plus attribué aux dommages oxydatifs ; il est souvent employé comme indicateur du stress oxydatif (Zhang & Kirkham 1994). Le dosage de la MDA est un moyen efficace pour évaluer les dommages du stress oxydatif sur la membrane (Katsuhara *et al.* 2005).

Le taux de MDA, reste faible et stable chez les plantes témoins des deux variétés durant toute la durée des expérimentations (Fig. 2 A, 2 B₁ et 2 B₂).

En conditions de stress hydrique induit par arrêt d'arrosage (Fig. 2 A), l'accumulation de la MDA est

graduelle et régulière chez les deux variétés durant toute la durée de l'expérimentation. Cependant, cette augmentation est plus importante chez la variété *jura* où elle atteint $6,61 \pm 0,2 \text{ mg.g}^{-1}$ au 18^{ième} jour d'arrêt d'arrosage.

En conditions de stress osmotique (Fig. 2 B₁ et 2 B₂), une faible accumulation de MDA en fonction du temps est observée après 24 heures d'expérimentation chez les plantes stressées de la variété *fantasio*. Chez la variété *jura* et durant les 24 premières heures d'expérimentation, une accumulation significative de MDA est observée pour les deux concentrations de PEG (1% et 5%). Cette accumulation devient significativement plus importante après 48 heures chez les deux variétés. Lors de stress sévère, le taux de MDA est plus important après 48 heures d'expérimentation chez la variété *jura* avec des valeurs maximales de $4,59 \pm 0,01 \text{ mg.g}^{-1}$ contre $3,83 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$ chez la variété *fantasio*.

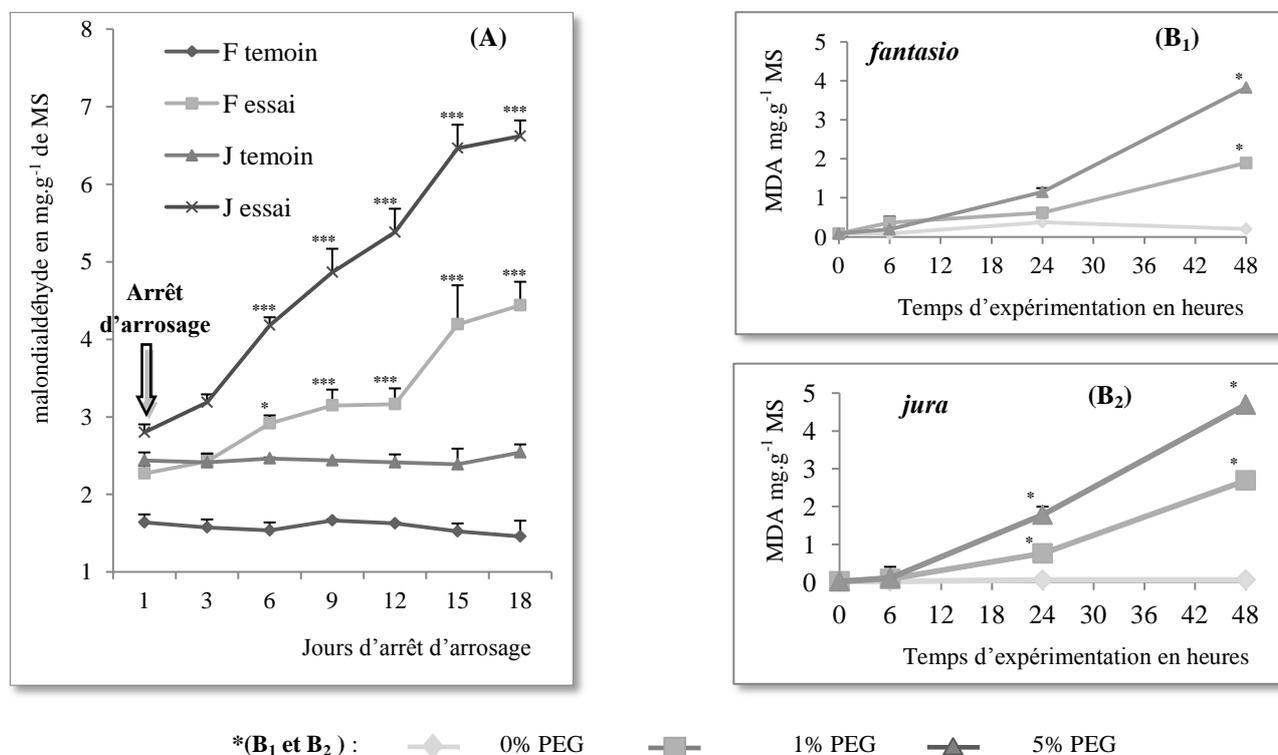


Figure 2. Évolution de la teneur en MDA des feuilles témoins et stressées de plants de colza (variété *fantasio* et *jura*) soumis à un arrêt d'arrosage (A) et à un choc osmotique provoqué par deux concentrations (1% et 5%) de PEG 6000 (B₁ et B₂)*. (Chaque point représente la moyenne de trois répétitions différentes. *P < 0,05, **P < 0,01 et ***P < 0,001 représentent le niveau de significativité entre les témoins et les stressées aux différents points de dosage. Les barres verticales indiquent les écarts types).

Figure 2. Changes in MDA content of witnesses and stressed leaves of colza plants (*jura* and *fantasio*) subject to a watering stop (A) and osmotic shock caused by two concentrations of PEG 6000 (B₁ et B₂)*. (Each point represents the average of 3 replicates ; vertical bars indicate the standard error).

La peroxydation des lipides membranaires serait associée à un défaut de fonctionnement du système de détoxification, qui pourrait mener aux dommages des composants cellulaires principaux (Monk *et al.* 1989 ; Jiang & Huang 2001). Une telle réponse est rapportée sous l'effet du déficit hydrique chez la luzerne (Irigoyen *et al.* 1992), le blé (Zhang & Kirkham 1994) et quelques graminées (Jiang & Huang 2001). Une réduction de la teneur relative en eau des feuilles plus importante ainsi qu'une plus forte peroxydation des

lipides membranaires, sont observées chez la variété *jura* lors de stress hydrique et osmotique.

Effets des stress hydrique et osmotique sur la teneur en proline

L'augmentation de la teneur en proline serait reliée directement à l'application du stress hydrique (Cechin *et al.* 2006). Plus le niveau de stress appliqué augmente plus les teneurs en proline deviennent marquées (Savouré *et al.* 1995).

Cette corrélation négative entre l'accumulation de la proline et l'humidité du sol est observée chez différentes espèces de blé dur (Nouri 2002) et chez la luzerne (Hireche 2006).

Les quantités accumulées pourraient être liées au niveau de tolérance aux stress (Singh *et al.* 1973). La proline accumulée pourrait jouer un rôle d'osmoticum (Stewart & Lee 1974).

En plus de son rôle d'osmoprotecteur, la proline a un rôle dans le renforcement du système antioxydant et de lutte contre les dommages du stress. (Khedr *et al.* 2003 ; Demiral & Turkan 2004 ; Ma *et al.* 2006 ; Molinari *et al.* 2007). Elle pourrait également intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique (Pesci & Beffagna 1984) ou constituer une réserve d'azote utilisée par la plante après la période du stress (Tal & Rosenthal 1979).

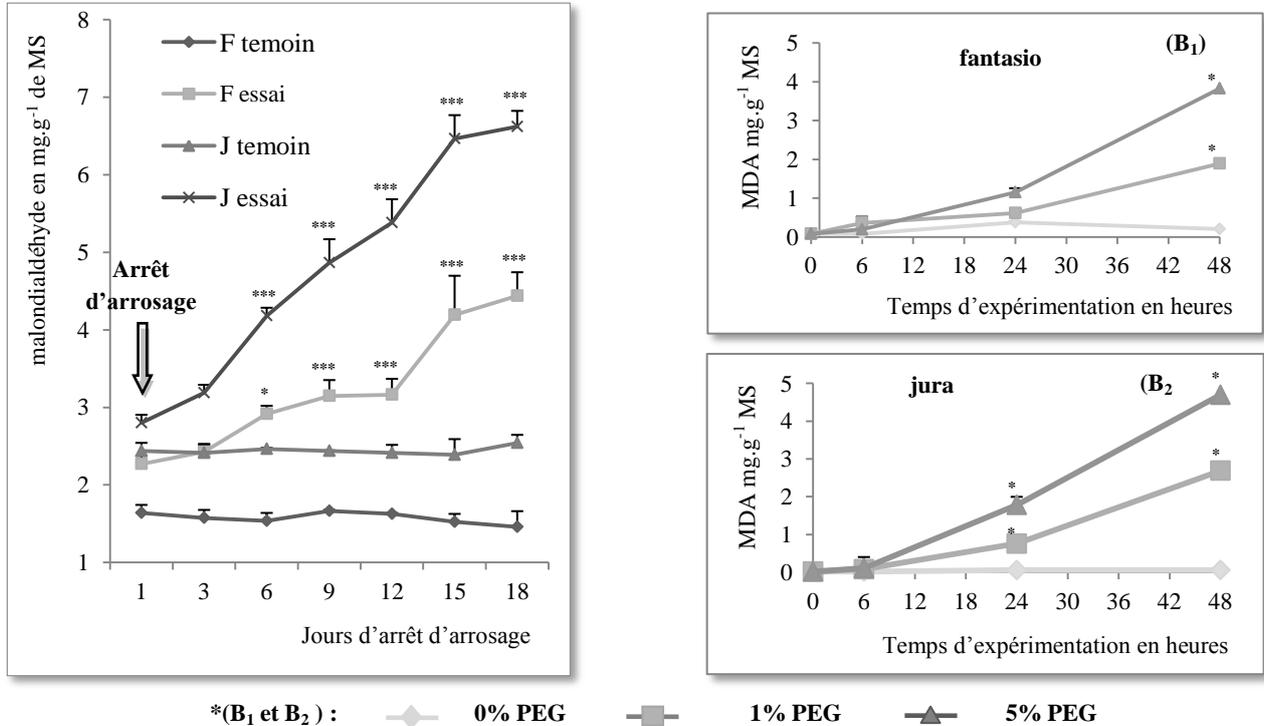


Figure 3. Évolution de la teneur en proline des feuilles témoins et stressées de plants de colza (variétés *fantasio* et *jura*) soumis à un arrêt d'arrosage (A) et à un choc osmotique provoqué par deux concentrations (1% et 5%) de PEG 6000 (B₁ et B₂)*. (Chaque point représente la moyenne de trois répétitions différentes. *P < 0,05, **P < 0,01 et ***P < 0,001 représentent le niveau de significativité entre les témoins et les stressées aux différents points de dosage. Les barres verticales indiquent les écarts types).

Figure 3. Changes in proline content of witnesses and stressed leaves of colza plants (*fantasio* and *jura*) subject to a watering stop (A) and osmotic shock caused by two concentrations (1% and 5%) of PEG 6000. (B₁ et B₂)*. (Each point represents the average of 3 replicates ; vertical bars indicate the standard error).

Chez les plantes témoins des deux variétés le taux de proline reste faible et constant durant toute la durée des expérimentations (Fig. 3 A, 3 B₁ et 3 B₂). Une importante accumulation de proline chez les plantes stressées des deux variétés de colza en fonction de l'intensité du stress est observée (Fig. 3 A) ; cette accumulation est plus rapide et plus régulière chez la variété *fantasio* avec une vitesse moyenne d'accumulation de 0,55 mg.g⁻¹ par jour contre 0,25 mg.g⁻¹ chez la variété *jura*.

En conditions de stress osmotique (Fig. 3 B₁ et 3 B₂), l'accumulation de proline reste faible chez les deux variétés durant les premières 24 heures d'expérimentation. Ceci est valable pour les deux concentrations de PEG. Durant les dernières 24 heures d'expérimentation, le taux de proline augmente chez les plantes stressées des deux variétés. Cette augmentation reste faible pour les concentrations de PEG de 1% et significativement importante lorsque la concentration de PEG est de 5%. Par comparaison avec la variété *jura*, le taux de proline est deux fois plus important chez la variété *fantasio* après 48 heures d'expérimentation et pour les deux

concentrations de PEG, ce qui pourrait indiquer une meilleure résistance de la variété *fantasio* au stress

CONCLUSION

Le stress osmotique a induit chez les deux variétés une réduction significative de la teneur relative en eau des feuilles.

Une peroxydation lipidique ainsi qu'une accumulation de proline est observée chez les deux variétés en conditions de stress hydrique et osmotique. L'accumulation de proline chez la variété *fantasio* est plus importante que chez la variété *jura*. Cette forte accumulation pourrait s'expliquer par un bon ajustement osmotique chez *fantasio*. L'accumulation de MDA, est en revanche plus importante chez *jura*, ce qui pourrait s'expliquer par une plus forte peroxydation lipidique chez cette variété en conditions de stress hydrique et osmotique.

La variété *fantasio* présenterait un meilleur profil d'adaptation et de résistance aux deux stress.

REMERCIEMENTS

Nous remercions l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC Algérie) qui nous a gracieusement fourni les graines des deux variétés de colza.

REFERENCES

- Acevedo R., Morelock J. & Olivieri R.A. 1989. Modification of coral reef zonation by terrigenous sediment stress. *Palaios*, 4, 92-100.
- Bates L.S., Waldren R.P. & Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Belkhdja M. & Bidai Y. 2004. Réponse de la germination des graines d'*Atriplex halimus* L. sous stress salin. *Revue Sécheresse* 4, 15, 331-335.
- Benassi J.L. & Labonne M. 2004. Perspectives pour les oléagineux dans les pays du Maghreb : Algérie, Maroc et Tunisie. *Oilseeds and fats, Crops and lipids (OCL)*, 11, 2, 3-4.
- Blum A. 1988. *Plant breeding for stress environments*. CRC Press: Boca Raton, Florida.
- Casals M.L. 1996. *Introduction des mécanismes de résistance à la sécheresse dans un modèle dynamique de croissance et de développement du blé dur*. Thèse de doctorat de l'INRA Paris Grignon, 93 p.
- Cechin I., Rossi S.C., Oliveira V.C. *et al.* 2006. Photosynthetic responses and proline content of mature and young leaves of sunflower plants under water deficit. *Photosynthetica* 44, 1, 143-146.
- Clarke J.M. & McCaig T.M. 1982. Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat. *Crop. Science*, 22, 1036-1040.
- Cushman J.C. & Bohnert H.J. 2000. Genomic approaches to plant stress tolerance. *Current Opinion in Plant Biology*, 3, 117-124.
- Demiral T. & Türkan İ. 2004. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53, 247-257.
- El Mourid M., Karrou M. & El Gharous M. 1996. La recherche en aridoculture respectueuse de l'environnement. *Al Awamia*, 92, 69-81.
- Guichardant M., Vallete-Talbi L., Cavadini C. *et al.* 1994. Malondialdehyde measurement in urine. *Journal of Chromatography B: Biomedical sciences and Applications*, 655, 112-116.
- Heath R.L. & Parcker L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. 1. Kinetics tries of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
- Hireche YA., 2006. *Réponse de la luzerne (Medicago sativa L.) au stress hydrique et à la profondeur de semis*. Mémoire de Magister, Université Al Hady Lakhdar-Batna (Algérie), 83 p.
- Irigoyen J.J., Emerich D.W. & Sanchez-Diaz M. 1992. Alfalfa leaf senescence induced by drought stress: photosynthesis, hydrogen peroxide metabolism, lipid peroxidation and ethylene evolution. *Physiologia Plantarum*, 84, 67-72.
- Jiang Y. & Huang B. 2001. Drought and heat injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*, 41, 436-442.
- Katsuhara M., Otsuka T. & Ezaki B. 2005. Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in *Arabidopsis*. *Plant Science*, 169, 369-373.
- Khedr A.H.A., Abbas M.A., Wahid A.A.A. *et al.* 2003. Proline induces the expression of salt-stress responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreaticum maritimum* L. to salt-stress. *Journal of Experimental Botany*, 54, 55-62.
- Ladigues P.Y. 1975. Some aspect of tissue water relation in three populations of *Eucalyptus viminalis* Labill. *New Phytologist*, 75, 53-62.
- Ma QQ., Wang W., Li Y.H. *et al.* 2006. Alleviation of photo-inhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar-applied glycinebetaine. *Journal Plant Physiology*, 163, 165-75.
- May L.H. & Milthrope F.L. 1962. Drought resistance of crops plants. *Field Crop Abstracts*, 15, 171-179.
- Molinari H.B.C., Marur C.J., Daros E. *et al.* 2007. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. *Plant Physiology*, 130, 218-229.
- Monk L.S., Fagerstedt K.V. & Crowfold R.M.M. 1989. Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an antioxidant in physiological stress. *Plant Physiology*, 76, 456-459.
- Morgan J.M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 35, 299-319.
- Nakashima M. 1998. End-users' Governance of Natural Resources: Irrigation Management Transfer in Mexico. *Hiroshima Journal of International Studies*, 4, 1-16.
- Nouri L. 2002. *Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur (Triticum durum Desf.) en condition de déficit hydrique*. Thèse de Magistère en Biologie végétale Univ Mentouri. Constantine. 77 p.
- Ohkawa H., Ohishi N. & Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358.
- Pesci P. & Beffagna N. 1984. Inhibiting effect of fusicoccin on abscisic acid-induced proline accumulation in barley leaf segments. *Plant Science Letters*, 36, 7-12.
- Sairam R.K., Chandrasekhar V. & Srivastava G.C. 2001. Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their responses to water stress. *Biologica plantarum*, 44, 89-94.
- Samir K. 1993. *Réponses agrophysiologiques de trois variétés de blé dur au stress hydrique en zones semi-arides marocaines*. Thèse 3^{ème} cycle, Faculté des sciences de Meknès, 185 p.
- Savouré A., Jaoua S., Hua Xue Jun. *et al.* 1995. Isolation, characterization, and chromosomal location of a gene encoding the Delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters*, 372, 13-19.
- Scofield T., Evans J., Coook M.G. *et al.* 1988. Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Australian Journal Plant physiology*, 4, 785 - 797.
- Singh T.N., Paleg L.G. & Aspinall D. 1973. Nitrogen metabolism and growth in barley plant during water stress. *Australian Journal of Biological Sciences*, 26, 45-56.
- Slyter R. 1974. The effect of internal water status on plant growth development and yield. *In Plant responses to climatic factors. Proceedings of the Uppsala Symposium, UNESCO*.
- Smirnov N. 1998. Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology*, 9, 214-219.
- Stewart C.R. & Lee J.A. 1974. The role of proline accumulation in halophytes. *Planta*, 120, 273-289.
- Tal M. & Rosenthal I. 1979. Salt tolerance in *Simmondsia chenensis* water balance and accumulation of chloride sodium and proline under low and high salinity. *Annals of Botany*, 34, 701-708.
- Thompson J.E., Paliyath G., Brown J.H. *et al.* 1987. The involvement of active oxygen in membrane deterioration

- during senescence. In Thompson, Nothnagel & Huffaker (eds). *Plant Senescence: its Biochemistry and Physiology*. American society of Plant Physiologists, (Rockville, USA), 146-155.
- Troll W. & Lindsey J. 1955. A photometric method for the determination of proline. *Journal of biological Chemistry*, 215, 655- 660.
- Weckx J.E.J. & Clijsters H.M.M. 1996. Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of *phaseolus vulgaris* as a result of root assimilation of toxic amounts of copper. *Physiologia Plantarum*, 96, 506-512.
- Zhang J. & Kirkham M.B. 1994. Drought-stress induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidases in wheat leaves. *Plant and Cell Physiolog*, 35, 785-791.
- Zeghida A., Amrani R., Djennadi F. *et al.* 2004. Etude de la variabilité de réponse des plantules de blé dur (*Triticum durum* Desf.) à la salinité. Céréaliculture. ITGC. 42. Constantine, 5 p.

Manuscrit reçu le 06/07/2014

Version révisée acceptée le 10/03/2015

Version finale reçue le 30/03/2015

Mise en ligne le 15/04/2015