

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES



THESE

Présentée

Par AIT SAID SAMIR

En vue de l'obtention du titre de

DOCTEUR EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Option : Biologie Végétale

Thème

**STRATEGIES ADAPTATIVES DE DEUX ESPECES DU GENRE *Pistacia*
(*P. lentiscus* L. ET *P. atlantica* Desf.) AUX CONDITIONS D'ALTITUDE, DE
SALINITE ET D'ARIDITE : APPROCHES MORPHO-ANATOMIQUES,
PHYTOCHIMIQUES ET ECOPHYSIOLOGIQUES**

Soutenue publiquement le 22 / 10 / 2011

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Lieu d'Exercice	Qualité
HARGAS Rosa	Professeur	U.M.M.T.O.	Présidente
DERRIDJ Arezki	Professeur	U.M.M.T.O.	Directeur
MEVY Jean-Philippe	Maître de Conférences	Aix-Marseille Université	Co-Directeur
ABROUS Ouzna	Professeur	U.S.T.H.B.	Examinatrice
KHELIFI Lakhdar	Professeur	E.N.S.A.	Examineur
KROUCHI Fazia	Maître de Conférences Classe A	U.M.M.T.O.	Examinatrice
GAUQUELIN Thierry	Professeur	Aix-Marseille Université	Invité

Remerciements

Je remercie mon Directeur de thèse Arezki Derridj, Professeur à l'université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou pour m'avoir accepté en thèse de doctorat dans son laboratoire. Je le remercie d'abord pour ses qualités humaines, pour l'attention qu'il m'a accordée à la direction, à l'orientation et à la réalisation de mes travaux de recherches en dépit de ses nombreuses obligations administratives et surtout son état de santé; qu'il trouve ici le témoignage de mon grand respect et de mon estime.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Jean-Philippe Mévy, Maître de conférences à Aix-Marseille Université qui m'a chaleureusement accueilli dans l'Equipe Diversité Fonctionnelle des Communautés Végétales. Merci à toi Jean-Philippe d'avoir accepté la charge de co-diriger cette thèse; pour ta gentillesse et pour ta patience tout au long de mon séjour en France. Sa rigueur, ses suggestions nombreuses et ses conseils éclairés m'ont été d'un précieux concours pour valoriser les résultats obtenus et à la rédaction des articles. Qu'il trouve ici l'expression de mes remerciements les plus sincères pour tout le temps qu'il m'a consacré et pour toutes les connaissances scientifiques qui m'a transmises notamment dans le domaine de phytochimie et en écophysiologie végétale.

Je voudrais également adresser mes remerciements aux membres de jury d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je suis très reconnaissant au Pr Thierry Tatoni, Directeur de l'IMEP pour m'avoir accepté dans son institut, à toutes les personnes de l'IMEP, de l'université de Provence de Marseille ayant contribué de près ou de loin dans mes travaux: Thierry Gauquelin et Catherine Fernandez pour leurs conseils pertinents dans l'échantillonnage et pour leur détermination lors de la rédaction des articles scientifiques, Stéphane Greff, m'a patiemment soutenu dans l'apprentissage des méthodes d'analyse phytochimiques et qui m'a appris à communiquer avec les appareils capricieux, Franck Torre pour les traitements statistiques de mes données au logiciel R, Régine Verlaque m'a beaucoup aidé dans le domaine de la phytoderomologie, l'observation des feuilles à la loupe binoculaire, l'identification des poils et pour les différents ouvrages précieux qu'elle a mis à ma disposition, Alain Tonnetto pour la prise des photos au service de la microscopie électronique à Balayage et confocale, et sans oublier Sylvie, Virginie, Caroline, Christine, Bruno, Nicolas, Françoise, Romain, Hussein et Samira pour leur aide dans ma partie expérimentale.

C'est aussi un grand plaisir d'exprimer ma gratitude à toutes les personnes qui m'ont aidé dans la récolte de mon matériel végétal et je cite en particulier Rachid Zergane; Conservateur des forêts de Béni Slimane et ceux des wilayas de Laghouat et de Béchar. Je ne saurais également remercier les services de l'Agence Nationale des Ressources Hydriques (A.N.R.H.) (en particulier Ali Mhand) et ceux de l'Office Nationale de la Météorologie (O.N.M.) d'Alger de m'avoir communiqué les données météorologiques de mes stations d'études.

Un grand merci à Fazia Krouchi qui m'a soutenu du début à la fin de ce projet.

Salem Aired de l'université Mouloud MAMMERI de Tizi Ouzou a mis à ma disposition le matériel nécessaire pour ma partie expérimentale (microscopie). Qu'il en soit infiniment remercié.

Je suis très reconnaissant aux deux gouvernements Franco-Algérien de m'avoir octroyé une bourse de 18 mois qui m'a été plus que nécessaire pour finaliser mes travaux de recherches en France dans des meilleurs conditions.

J'offre ce modeste travail, à mes amis et collègues Arezki, Samira, Ouerdia, Fatiha, Hakim, Mustapha et à toute ma famille et en particulier mes chers parents pour leurs encouragements et leurs soutiens tout au long de mes études.

*A mes chers parents
à mon adorable ami Mustpha*

Liste des abréviations

Microscopie

- SEM** : Scanning Electrons Microscopic (M.E.B)
LSM : Light Scanning Microscopic (Confocal microscopic)
DMSO : Diméthylsulfoxyde
HEPES : Acid 4-(2-Hydroxyéthyl)-1-Pipérazine Ethane Sulfonique
SBFI : Sodium Binding Benzofuran Isophthalate

Partie Climatique

- O.N.M** : Office Nationale de la Météorologie
A.N.R.H : Agence Nationale des Ressources Hydriques
Q₂ : Quotient pluviothermique d'Emberger
M⁰ : Température maximale des mois les plus chauds

Partie Phytochimique

- CG-MS** : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à un Spectre de Masse
MS : Matière Sèche
DW : Dry Weight
w/v : weight/volume
w/w : weight/weight
AI : Arithmetic Index of Adams (2007)
RI : Retention Index
NI : No identified
Tr : Trace
R.O.S : Reactive Oxygen Species
N.I.S.T : National Institute of Standards and Technology
I.P.P : Isopenthyl pyrophosphate
DMAPP : Diméthylallyl-diphosphate
GPP : Géranyl pyrophosphate
FPP : Farnésyl pyrophosphate
GGPP : Géranyl géranyl pyrophosphate
DXP : Deoxyxylulose-5-phosphate pathway
MEP : Methylerythritol 4-phosphate pathway
PSY : Gene encodes the first dedicated enzyme of the CrtBS pathway which catalyzes the condensation of two molecules GGPP to form 15-cis-phytoene
GGR2 : Enzyme reduces GGPP to phytyl pyrophosphate
ABA : Absciscic Acid

Pigments foliaires

- Chl** : Total des chlorophylles
Chla : Chlorophylle a
Chlb : Chlorophylle b
Caro : Caroténoïdes

Echanges gazeux et photosynthèse

Li-COR 6400	: Analyseur de gaz
ΦCO₂	: Rendement quantique de la réduction du CO ₂
G_s	: Conductance stomatique
P_n	: Taux de photosynthèse
IRGA	: Infra Red Gas Analyzer
RUBISCO	: Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase
O.E.C	: Oxygene Evolving Complex
NADPH	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit
ADP	: Adénosine Diphosphate
ATP	: Adénosine Triphosphate

Paramètres de Fluorescence

FMS 2	: Hansatech [®] Fluorescence Monitoring System
PSI	: Photosystème I du chloroplaste
PSII	: Photosystème II du chloroplaste
PAR	: Radiation Photosynthétique Actives
F₀	: Fluorescence minimale (réduction de tous les centres réactionnels de PSII)
F_m	: Fluorescence maximale (oxydation de tous les centres réactionnels de PSII)
F_s	: Fluorescence à l'état stationnaire
ETR	: Electron Transport Rate
ΦPSII	: Efficacité quantique réelle
NPQ	: Quenching Non-photochimique
qP	: quenching photochimique
Q_A	: Accepteurs primaires d'électrons
Q_B	: Accepteurs secondaires d'électrons

Radicaux libres

R.O.S	: Reactive Species Oxygene
O²⁻	: Radicaux Superoxydes
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène
OH⁻	: Radicaux Hydroxyles

Enzymes antioxydantes

SOD	: Superoxide Dismutases
APX	: Ascorbate-Peroxydases
GST	: Glutathion-S-Transférases
GPX	: Glutathion-Peroxydases
CAT	: Catalases

Protéines de défense contre le stress hydrique

- LEA** : Late Embryogenesis Abundant
HSP : Heat Shock Proteins
DSP : Chloroplaste-localized stress proteins
 DSP21 : localisée dans le stroma
 DSP22 : localisée dans les thylakoïdes
 DSP34 : localisée dans les thylakoïdes

Indicateur de stress (peroxydation des lipides)

MDA : Malondialdehyde

Partie statistique

- Anova** : Test d'analyse de la variance
Ancova : Test d'analyse de la covariance
A.C.P : Analyse en Composantes Principales
Df : degrees of freedom
SS : some of square
MS : Mean of square
F : Fonction de Fischer
P : Seuil de probabilité
HSD : Honestly Significant Differences
Signi. : Significativité
n.s : Différence non significative
***** : Différence significative au seuil de 5%
****** : Différence significative au seuil de 1%
******* : Différence significative au seuil de 1‰

Table des illustrations

Fig. 1. Capture de photons par des antennes collectrices des photosystèmes et le transfert de charge.....	03
Fig. 2. Certains exemples des types chimiques représentés parmi les composés terpéniques...	06
Fig. 3. Les deux voies de synthèse de l'isopenthyll pyrophosphate (IPP) à l'origine de tous les terpénoïdes. A: voie de l'acide mévalonique.....	07
et B: la voie de deoxyxylulose 5-Phosphate (DXP).....	08
Fig. 4. Synthèse des différentes classes de terpènes; dans le plaste et dans le cytoplasme à partir de l'IPP et le DMAPP.....	09
Fig. 5. Aire de répartition de la famille des Anacardiacees dans le monde (Alyaki, 1979).....	16
Fig. 6. Aire de distribution des espèces du genre <i>Pistacia</i> dans le monde. A: <i>P. lentiscus</i> L. (—) et B: <i>P. atlantica</i> Desf.(—) (Alyafi, 1979).....	17
Fig. 7. Certains caractères botaniques chez <i>P. lentiscus</i> : A , inflorescence mâle; B , arbuste en stade de fructification avec feuilles.....	18
Fig. 8. Aire de répartition du pistachier de l'Atlas dans le Nord Algéro-Tunisien (Monjauze, 1968).....	19
Fig. 9. Certains caractères botaniques chez <i>P. atlantica</i> : A , inflorescence mâle; B , Arbre ; C , fruits à différents stades de maturation ; D , feuille.....	20
Fig. 10. Carte de situation des stations de <i>P.lentiscus</i> échantiionnées en Algérie : ● stations du littoral, ● stations de moyenne altitude et ● stations d'altitude élevée.....	22
Fig. 11. Carte de situation des stations de <i>P. lentiscus</i> échantiionnées en France : station de Montespín (Semi-aride), station de Montredon (Littoral) et la station de Callelongue (Aride).....	24
Fig. 12. Carte de situation des stations de <i>P. atlantica</i> échantiionnées en Algérie (●). A: Béni Slimane (Médéa), B: Tilghemt (Laghouat) et C: Beni Ounif (Béchar).....	25
Fig. 13. Plantules de <i>P. atlantica</i> (à gauche) et <i>P. lentiscus</i> (à droite) dans la salle de culture de l'université de Provence.....	26
Fig. 14. Plantules de lentisque, âgées de 8 mois et originaire de la station de Montredon réparties en quatre modalités (Témoin, NaCl, CaCl ₂ et NaCl+CaCl ₂) sont soumises au stress salin par des arrosages répétés avec du NaCl.....	27
Fig. 15. Biométrie foliaire chez <i>P. atlantica</i> Desf.....	28
Fig. 16. Paramètres anatomiques foliaires mesurés au niveau d'une coupe transversale d'une feuille de <i>P. atlantica</i> Desf. observée au microscope photonique Motic, Gx400, Coloration au carmino-vert (source : Ait Said <i>et al.</i> , 2009).....	28
Fig. 17. Folioles du pistachier de l'Atlas enrobées avec de l'or pour les observations au M.E.B.....	29
Fig. 18. Microscope électronique à balayage FEI XL30 ESEM (U.S.A.) utilisé pour les différentes observations phytodermologiques des feuilles des plantules du pistachier de l'Atlas.....	29
Fig. 19. Schéma simplifié de la photosynthèse.....	32
Fig. 20. Différentes voies de désactivation des molécules de chlorophylle excitée : fluorescence, chaleur et photochimie.....	32
Fig. 21. Fluorimètre FMS 2 (Hansatech® Fluorescence Monitoring System) utilisé pour les mesures de la fluorescence de la chlorophylle des feuilles de lentisque, B : Flèche en rouge désigne le clip utilisé pour l'acclimatation des feuilles à l'obscurité.....	33

Fig. 22. Modèle d'une courbe de fluorescence de la chlorophylle. A : en condition d'obscurité ou B : en condition d'illuminosité	34
Fig. 23. Cinétique de la fluorescence de la chlorophylle chez les feuilles du lentisque à différents niveaux de PAR.....	34
Fig. 24. Appareil de Scholender et ses différentes pièces accessoires utilisées pour la mesure du potentiel hydrique d'une feuille.....	36
Fig. 25. Dosage de pigments. A : Spectrophotomètre série BioMate™ 3, B : Etalonnage et C : mode de lecture.....	37
Fig. 26. Appareil Li-Cor 6400 (U.S.A.) utilisé pour les mesures des échanges gazeux chez les plantules du lentisque et celles du pistachier de l'Atlas	38
Fig. 27. Microscope Confocal (U.S.A.) de l'université de Provence (LSM 710, ZEISS) utilisé pour l'imagerie fonctionnelle.....	39
Fig. 28. Geographical location of the investigated <i>P. atlantica</i> populations. Sites (●) (utilisée dans l'article accepté Flora).....	45
Fig. 29. Scanning electron micrographs showing epidermis and trichomes of <i>P. atlantica</i> seedling leaves. - Midrib of adaxial leaf surface, covered by elongated trichomes (A). Bar = 200µm. - Elongated trichomes in parallel rows (B). Bar=10µm. – Glandular trichome (C). Bar= 20 µm. - Low density of glandular trichomes in Medea population (D) compared to Bechar population (E). Bar = 500µm. - Tufted hairs at the adaxial leaf surface in Médéa population (F). Bar= 50µm.....	49
Fig. 30. Variance analysis of monoterpene, sesquiterpene and total terpene contents found in female <i>Pistacia atlantica</i> ssp. <i>atlantica</i> leaves from low, medium and high aridity sites in Algeria. Means of n=10 with standard errors, $p < 0.05$	51
Fig. 31. Correlation of occurrences of terpenoid compounds ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ dw}$) from female <i>Pistacia atlantica</i> ssp. <i>atlantica</i> leaves from low, medium and high aridity sites in Algeria; shown are only those terpenoids among which high correlation could be found.....	52
Fig. 32. Two dimensional P.C.A. of <i>Pistacia atlantica</i> ssp. <i>atlantica</i> individual samples originating from low (la), medium (ma) and high (ha) aridity sites in Algeria.....	53
Fig. 33. Plantules du pistachier de l'Atlas après 16 jours de stress hydrique. A : 08 plantules originaires de la station de Médéa dont la moitié (en flèche rouge) sont à feuilles sèches; B : 08 plantules originaires de la station de Béchar qui restent toutes vivantes.....	59
Fig. 34. Effet du stress hydrique sur les échanges gazeux chez les plantules de <i>Pistacia atlantica</i> . A : Photosynthèse, B : rendement quantique de la réduction du CO_2 , C : conductance stomatique.....	61
Fig. 35. Faces inférieures des folioles des plantules de <i>Pistacia atlantica</i> observées au M.E.B. La densité stomatique est statistiquement plus faible (81 stomates/ mm^2) chez A : les plantules originaires de Médéa comparée à B : celles en provenance de Béchar (148 stomates/ mm^2).....	62
Fig. 36. Les différents états de stomates dans les feuilles des plantules du pistachier de l'Atlas au moment du stress hydrique. A : Stomate de grande taille fermé dans la station de Médéa, B : stomate de petite taille à moitié ouvert dans la station de Béchar.....	63
Fig. 37. Effet du stress hydrique (induit par omission de l'irrigation) sur les paramètres de fluorescence chlorophyllienne chez les plantules de <i>Pistacia atlantica</i> . A : efficacité quantique maximale, B : efficacité réelle d'utilisation de la lumière, C : taux de transfert des électrons à travers le PSII. D : coefficient du quenching photochimique.....	64
Fig. 38. Tow-dimensional mapping of the P.C.A. analysis of <i>Pistacia lentiscus</i> L. individual distribution from low, mid and high altitude sites in Algeria (l: low; m: medium and h: high altitude sites).....	73

Fig. 39. Annual mean monthly precipitation (in columns) and minimal air temperature in 2009 at Marseille-Marignane (Lat. 43°26'12"N and Long. 5°12'54"E) in south-eastern France. Data source: METEO-FRANCE.....	80
Fig. 40. Leaf water potential of <i>P. lentiscus</i> leaves. Site <i>versus</i> season interaction. Means of n=36 with standard errors, $p < 0.05$	82
Fig. 41. Variance analysis (ANOVA test, 5%) of predawn maximum efficiency of PSII (Fv/Fm) site <i>vs</i> season interaction.....	83
Fig. 42. Variance analysis (ANOVA test, 5%) of predawn maximum efficiency of PSII (Fv/Fm) season <i>vs</i> sex interaction.....	83
Fig. 43. Variance analysis (ANOVA test, 5%) of pigment contents in leaves of <i>Pistacia lentiscus</i> L. site <i>vs</i> season interaction. A: Chlorophyll a, B: chlorophyll b, C: Total chlorophyll, D: Carotenoid/Chlorophyll ratio.....	84
Fig. 44. Correlation curves between predawn physiological parameters; A: Carotenoid/Chlorophyll ($\mu\text{g.g}^{-1}$ fw) and Water potential (MPa); B: Carotenoid ($\mu\text{g.g}^{-1}$ fw) and Total chlorophyll ($\mu\text{g.g}^{-1}$ fw); C: total chlorophyll ($\mu\text{g.g}^{-1}$ fw) and Fv/Fm.....	84
FIG. 45. Typical response curves of actual PSII efficiency to light intensity (ΦPSII) in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during winter. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: d<c<b<a.....	88
Fig. 46. Typical response curves of the photochemical quenching coefficient (qP) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during winter. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: b<a.....	89
Fig. 47. Typical response curves of the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during winter. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: b<a.....	90
Fig. 48. Typical response curves of actual PSII efficiency to light intensity (ΦPSII) in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during spring. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: d<c<b<a.....	94
Fig. 49. Typical response curves of the photochemical quenching coefficient (qP) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during spring. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: c<b<a.....	95
Fig. 50. Typical response curves of the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during spring. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: b<a.....	96
Fig. 51. Typical response curves of actual PSII efficiency to light intensity (ΦPSII) in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during summer. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: b<a.....	97
Fig. 52. Typical response curves of the photochemical quenching coefficient (qP) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during summer. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: c<b<a.....	98

Fig. 53. Typical response curves of the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during summer. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $c<b<a$	99
Fig. 54. Typical response curves of actual PSII efficiency to light intensity (Φ_{PSII}) in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during autumn. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $c<b<a$	100
Fig. 55. Typical response curves of the photochemical quenching coefficient (qP) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during autumn. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $c<b<a$	101
Fig. 56. Typical response curves of the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of <i>P. lentiscus</i> from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during autumn. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $c<b<a$	102
Fig. 57. Effet du stress salin (induit par un arrosage répété avec du NaCl) sur les plantules de <i>Pistacia lentiscus</i> . A: conductance stomatique, B: Photosynthèse et C: rendement quantique de la réduction du CO ₂	109
Fig. 58. Courbe de corrélation entre le rendement quantique de la réduction du CO ₂ et le taux de transfert d'électrons.....	109
Fig. 59. Cinétiques des paramètres de fluorescence de la chlorophylle, A: taux de transfert des électrons, B: efficacité réelle de l'utilisation de la lumière et C: pourcentage des centres réactionnels à l'état ouvert en fonction de la modalité et la durée de stress salin.	110
Fig. 60. Observations des coupes de feuilles de lentisque traitées avec NaCl au microscope confocal.....	111

Tab. 1. Données écologiques des stations algériennes de <i>Pistacia lentiscus</i> (A) et de <i>P. atlantica</i> (B).....	23
Tab. 1B. Ecological factors of the <i>Pistacia atlantica</i> collection sites, selected to define the aridity gradient (article Flora).....	46
Tab. 1A. Ecological factors of <i>Pistacia lentiscus</i> collection sites (article Molecules).....	74
Tab. 2. Morphological data (cm) of female <i>P. atlantica</i> ssp. <i>atlantica</i> leaves from low, medium and high aridity sites in Algeria. Mean of 30 measurements per tree with standard errors.....	48
Tab. 3. Anatomical data (μm) of female <i>P. atlantica</i> ssp. <i>atlantica</i> leaves from low, medium and high aridity sites in Algeria. Mean of 30 measurements per plant (3 replicates per leaf) with standard errors	48
Tab. 4. Concentrations of terpenoids ($\mu\text{g g}^{-1}$ dw) found in female <i>Pistacia atlantica</i> ssp. <i>atlantica</i> leaves from low, medium and high aridity sites in Algeria. Mean of 10 extractions per site with standard errors.....	50
Tab. 5. Analyse de variance (Test Anova à deux facteurs, 5%) des différents paramètres physiologiques : Pn, gs, ETR, ΦPSII , ΦCO_2 , qP et Fv/Fm entre provenance, temps et l'interaction provenance <i>versus</i> temps	60
Tab. 6. Analyse de variance (Test Anova à un facteur, 5%) des différents paramètres physiologiques : Pn, gs, ETR, ΦPSII , ΦCO_2 , qP et Fv/Fm entre les deux provenances, au moment de la résilience des plantules.....	65
Tab. 7. Concentration of terpenoids ($\mu\text{g g}^{-1}$ dw) found in female <i>Pistacia lentiscus</i> L. leaves from low, mid and high altitude sites in Algeria	69
Tab. 8. Variance analysis (Two-Way Anova test, 5%) of monoterpenes (hydrocarbons and oxygenated), sesquiterpenes (hydrocarbons and oxygenated) and total terpenes between sites, stations and interaction site <i>vs</i> station	72
Tab. 9. ANOVA analysis of pigment content ($\mu\text{g. g}^{-1}$ fw), Fv/Fm and leaf water potential (MPa) measured at predawn in <i>P. lentiscus</i> leaves (only significant differences are shown). Means of n= 36 per site.....	82
Tab. 10. ANCOVA analysis ($p<0.05$) of the response curves of actual PSII efficiency (ΦPSII), the photochemical quenching coefficient (qP), the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of <i>P. lentiscus</i> from coastal, semi-arid and arid sites during spring, summer, autumn and winter.....	86
Tab. 11. Regression equations ($p<0.001$) of the response curves of actual PSII efficiency (ΦPSII), the photochemical quenching coefficient (qP), the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of <i>P. lentiscus</i> from coastal, semi-arid and arid sites during spring, summer and autumn. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: d<c<b<a.....	87
Tab. 12. Analyse de variance (Test d'Anova à deux variables, 5%) des différents paramètres physiologiques étudiés chez les plantules de lentisque.....	106
Tab. 13. Analyse de variance (Test d'Anova à une variable, 5%) entre les quatre modalités à la fin du stress salin.....	107

Valorisation des Travaux Scientifiques

Les résultats obtenus durant cette thèse ont fait objet de :

Publications Internationales

1- Inter-population variability of leaf morpho-anatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria

Athors: Samir Ait Said ^{a,b}, Catherine Fernandez ^b, Stéphane Greff ^b, Arezki Derridj ^a, Thierry Gauquelin ^b, Jean-Philippe Mevy ^{b,*}

Article Reçu le 22 Avril 2010/ Accepté le 11 Août 2010/ Publié en 2011 : Revue *Flora*

2- Inter-Population Variability of Terpenoid Composition in Leaves of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria: A Chemoecological Approach

Authors: Samir Ait Said ^{1,2}, Catherine Fernandez ², Stéphane Greff ², Franck Torre ³, Arezki Derridj ¹, Thierry Gauquelin ² and Jean-Philippe Mevy ^{2,*}

Article Reçu le 22 février le 2011/ En révision jusqu'au 17 Mars 2011/ Accepté le 18 Mars 2011 / Publié le 22 March 2011 : Revue *Molecules*

3- Gender, Mediterranean habitats and seasonality: Linking PSII photochemistry patterns to some physiological data in *Pistacia lentiscus* L.

Authors: Samir Ait Said ^{1,2}, Jean-Philippe Mevy ^{2,*}, Catherine Fernandez ², Elena Ormeno ², Franck Torre ³, Arezki Derridj ¹ and Thierry Gauquelin ²

Article en cours de soumission dans *Journal of Experimental Botany*.

Communication Internationale

Effects of aridity on foliar characteristics of two dioecious species from Algeria: *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf.

Authors: Samir Ait Said ^(1,2), Arezki Derridj ⁽¹⁾, Régine Verlaque ⁽²⁾, Catherine Fernandez ⁽²⁾, Thierry Gauquelin ⁽²⁾, and Jean-Philippe Mevy ⁽²⁾

V International Symposium on Pistachios & Almonds. Sanliurfa, Turkey, October 06-10 2009

Table des matières

Chapitre 1. Introduction.....	01
1. La singularité du climat méditerranéen.....	02
2. Croissance et développement des végétaux : la photosynthèse.....	02
3. Contraintes environnementales et ajustements morpho-anatomiques chez les végétaux.....	04
4. Les ajustements biochimiques et physiologiques de la machinerie photosynthétique.....	04
5. Croissance et différenciation chez les végétaux : les métabolites secondaires.....	04
5.1. Les terpénoïdes.....	05
5.1.1. Synthèse des terpénoïdes.....	06
5.1.2. Organe de stockage des terpènes.....	10
5.1.3. Fonction écologique.....	10
5.1.4. Facteur de variation des terpènes.....	11
5.1.4.1. Facteurs biotiques.....	11
5.1.4.2. Influence des facteurs environnementaux.....	11
5.1.4.2.1. Température et luminosité.....	11
5.1.4.2.2. Aridité.....	11
5.1.4.2.3. Altitude.....	12
5.1.4.2.4. Autres facteurs (facteurs édaphiques et méthode d'extraction).....	12
6. Objectifs.....	12
Chapitre 2. Matériel et Méthodes.....	14
1. Les espèces étudiées.....	15
1.1. <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	15
1.1.1. Aire de répartition du lentisque.....	15
1.1.2. Caractères botaniques du lentisque.....	15
1.2. <i>Pistacia atlantica</i> Desf. ssp. <i>atlantica</i>	18
1.2.1. Aire du pistachier de l'Atlas.....	18
1.2.2. Caractères botaniques du pistachier de l'Atlas.....	19
2. Echantillonnage <i>in situ</i> et conditions écologiques des milieux d'étude.....	21
2.1. <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	21
2.2.1. Algérie.....	21
2.2.2. France.....	21
2.2. <i>Pistacia atlantica</i> Desf. ssp. <i>atlantica</i>	24
3. Germination et culture des plantules en conditions de stress hydrique et salin.....	26
3.1. Germination.....	26
3.2. Stress salin: <i>P. lentiscus</i>	26
3.3. Stress hydrique: <i>P. atlantica</i>	27
4. Etudes morpho-anatomiques.....	27
4.1. Biométrie foliaire.....	27
4.2. Anatomie de la feuille.....	27
4.3. Microscopie Electronique à Balayage.....	28
5. Analyse des terpénoïdes en CG-SM.....	30
5.1. Préparation du matériel végétal.....	30
5.2. Méthode d'extraction.....	30
6. Etudes écophysiologiques.....	31
6.1. Mesures de la fluorescence de la chlorophylle <i>a</i>	31
6.2. Mesures du potentiel hydrique de la plante.....	35

6.3. Dosage des pigments photosynthétiques.....	35
7. Etudes physiologiques : stress hydrique et salin.....	36
7.1. Mesures d'échanges gazeux couplées à la fluorescence de la chlorophylle a.....	36
7.2. Imagerie fonctionnelle : Microscopie Confocale à Balayage Laser (LS-CM).....	38
8. Traitement statistique des données.....	39
Chapitre 3. Résultats et Discussions.....	41
1. Inter-population variability of leaf morpho-anatomical and terpenoid patterns of <i>Pistacia atlantica</i> Desf. ssp. <i>atlantica</i> growing along an aridity gradient in Algeria.....	42
(article publié dans la revue <i>Flora</i>)	
1.1. Introduction.....	43
1.2. Material and methods.....	44
1.2.1. Sampling sites.....	44
1.2.2. Leaf morphology and anatomy.....	45
1.2.3. Scanning electron microscopy (sem) of seedling leaves.....	46
1.2.4. Terpenoids extraction.....	46
1.2.5. Quantitative and qualitative analysis of terpenoids.....	46
1.2.6. Statistic analysis.....	47
1.3. Results.....	47
1.3.1. Morphoanatomical measurements.....	47
1.3.2. SEM observations.....	47
1.3.3. Terpenoid analysis.....	48
1.4. Discussion.....	53
2. Le stress hydrique chez les plantules du pistachier de l'Atlas : analyse des échanges gazeux et de la fluorescence de la chlorophylle	56
2.1. Introduction.....	56
2.2. Matériel et méthodes.....	57
2.2.1. Germination des graines.....	57
2.2.2. Stress hydrique chez les plantules du pistachier de l'Atlas.....	57
2.2.3. Mesures des échanges gazeux et de celles de la fluorescence chlorophyllienne..	58
2.2.4. Observation des épidermes des plantules au M.E.B.....	58
2.2.5. Analyses statistiques.....	58
2.3. Résultats et Discussion.....	58
3. Inter-population variability of terpenoid composition in leaves of <i>Pistacia lentiscus</i> L. from Algeria: chemoecological approach.....	66
(Article publié dans la revue <i>Molecules</i>)	
3.1. Introduction.....	67
3.2. Results and Discussion.....	68
3.3. Experimental.....	74
3.3.1. Plant material.....	74
3.3.2. Terpenoids extraction.....	75
3.3.3. Quantitative and qualitative analysis of terpénoïdes.....	75
3.3.4. Statistic analysis.....	75
3.4. Conclusions.....	75

4. Gender, Mediterranean habitats and seasonality: Linking PSII photochemistry patterns to some physiological data in <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	77
<i>(Article soumis à la revue Journal of Experimental Botany)</i>	
4.1. Introduction.....	78
4.2. Materials and methods	79
4.2.1. <i>Plant material and growth conditions</i>	79
4.2.2. <i>Predawn leaf water potential</i>	80
4.2.3. <i>Predawn leaf pigments analysis</i>	80
4.2.4. <i>Predawn chlorophyll a fluorescence and light-response kinetic measurements</i>	80
4.2.5. <i>Statistical analyses</i>	81
4.3. Results.....	81
4.3.1. <i>Spatial and temporal variations of predawn leaf water potential</i>	81
4.3.2. <i>Spatial and seasonal variations of predawn maximum quantum efficiency and leaf photosynthetic pigment contents</i>	82
4.3.3. <i>Correlations between predawn physiological parameters</i>	83
4.3.4. <i>Seasonal light-response models of the contrasting sites</i>	85
4.3.4.1. <i>Winter models</i>	85
4.3.4.2. <i>Spring models</i>	85
4.3.4.3. <i>Summer models</i>	85
4.3.4.4. <i>Autumn models</i>	86
4.4. Discussion.....	91
5. Le stress salin chez les plantules de <i>Pistacia lentiscus</i> L. : analyse des échanges gazeux, de la fluorescence de la chlorophylle et d'images en microscopie confocale.....	103
5.1. Introduction.....	103
5.2. Matériel et méthodes.....	104
5.2.1. <i>Germination des graines</i>	104
5.2.2. <i>Plantules de lentisque testées au stress salin</i>	104
5.2.3. <i>Mesures des échanges gazeux et de la fluorescence chlorophyllienne</i>	105
5.2.4. <i>Observation des coupes de feuilles de lentisque soumis au stress salin en microscopie confocale</i>	105
5.2.5. <i>Analyses statistiques</i>	105
5.3. Résultats et Discussion.....	106
Chapitre 4. Discussion et Conclusions Générales.....	112
1. Modifications morpho-anatomiques des feuilles du pistachier de l'Atlas en réponse à l'aridité.....	113
2. Les terpènes face aux contraintes du milieu.....	114
2.1. <i>Les terpènes face à la sécheresse et leur relation avec la structure anatomique des feuilles du pistachier de l'Atlas</i>	114
2.2. <i>Influence de l'altitude sur la composition terpénique chez le lentisque</i>	115
2.3. <i>Influence de la saison estivale sur les teneurs en classes terpéniques</i>	117
2.4. <i>Les terpènes, éléments taxonomiques</i>	117
2.5. <i>Théorie de la croissance et la différenciation</i>	117
2.6. <i>Les terpènes dans la gestion des feux de forêts</i>	118
3. Réponse écophysiological aux variations des facteurs du milieu dans le temps et dans l'espace chez les espèces dioïques.....	118
3.1. <i>Contexte écologique</i>	118
3.2. <i>Stress hydrique des sites étudiés</i>	118

3.3. <i>Variation des paramètres de fluorescence chez le lentisque en fonction de la saison et les facteurs de stress</i>	118
3.4 <i>Effet sexe</i>	120
4. Variation des échanges gazeux en fonction des contraintes du milieu.....	121
5. Perspectives.....	123
Références Bibliographiques	124

Chapitre 1

Introduction

1. La singularité du climat méditerranéen

Les climats méditerranéens sont caractérisés par une période de sécheresse estivale assez prononcée marquée par des températures et insolation lumineuses élevées et dans le cas extrême par l'absence totale de précipitations (Di Castri, 1973). Cette période de sécheresse peut s'étaler sur la totalité de l'année, c'est le cas de certaines régions du Saha Algérien. A cette contrainte hydrique s'ajoute la salinité qui caractérise essentiellement les zones semi-arides et arides (Chatzissavvidis *et al.*, 2008) et qui touche actuellement 7% des terres mondiales (Zhu, 2002).

Certaines régions sont montagneuses notamment la Kabylie qui abrite une végétation adaptée aux conditions de vie extrêmes en altitude telles la baisse de température, augmentation de vents violents et l'exposition aux radiations lumineuses intenses essentiellement les UV-B et l'ozone (Kofidis *et al.*, 2003).

Ces trois facteurs de stress abiotiques menacent les forêts méditerranéennes réduisant par conséquent leurs superficies. Ils induisent souvent un changement dans la plupart des processus physiologiques et biochimiques des arbres affectant ainsi leur croissance et leur développement (Popova et Golldack, 2007; Wahid *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2010).

2. Croissance et développement des végétaux : la photosynthèse

La croissance et le développement des végétaux dépendent étroitement de la photosynthèse. Diverses études montrent que cette fonction physiologique qui varie en fonction des saisons (Gratani et Varone, 2004; Baquedano et Castillo, 2007; Varone et Gratani, 2007; Yiotis *et al.*, 2008) semble être perturbée par diverses contraintes du milieu surtout en cas de stress hydrique dû à la sécheresse (Hall, 2001; Gulías *et al.*, 2002; Rouhi *et al.*, 2007; Yin *et al.*, 2009) ou bien en cas de stress salin (Munns et James, 2003; Ashraf, 2004; Kanai *et al.*, 2007; Naumann *et al.*, 2007; Munns et Tester 2008). Ces perturbations sont dues essentiellement aux limitations stomatiques par réduction de la quantité de CO₂ dans les sites de carboxylation suite à la fermeture des stomates (Cornic et Fresneau, 2002; Haimeirong et Kubota, 2003; Lio *et al.*, 2004; Cechin *et al.*, 2006) ou à moindre échelle par une limitation non stomatique (Ma *et al.*, 1997; Rouhi *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2007) réduisant la capacité photosynthétique du mésophylle (Weng, 1993; Medrano *et al.*, 2002) par réduction de son efficacité de carboxylation (Ramajulu *et al.*, 1998; Bernacchi *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2007).

Durant la photosynthèse, 85% du rayonnement photosynthétiquement actif incident intercepté par les feuilles est absorbé par les deux photosystèmes PSI et PSII, par l'intermédiaire de leurs antennes collectrices (**Fig. 1**). Celles-ci sont essentiellement constituées de chlorophylles et de pigments associés, ainsi qu'une matrice protéique. Le résultat de cette conversion est la séparation de charge conduisant à un flux d'électrons, depuis un donneur qui est l'eau, jusqu'aux accepteurs terminaux (NADP), et s'accompagnant de la phosphorylation de l'ADP en ATP.

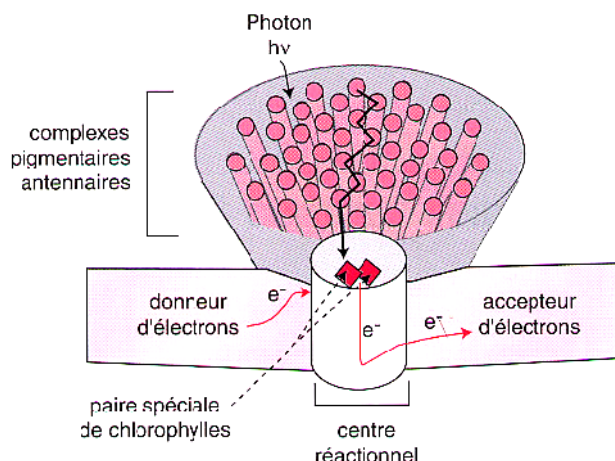


Fig. 1. Capture de photons par des antennes collectrices des photosystèmes et le transfert de charge.

Le plus souvent, la quantité d'énergie lumineuse captée par les végétaux est en excès par rapport à celle nécessaire pour leur photosynthèse ce qui entraîne une photoinhibition de leurs appareils photosynthétiques (Nogués et Baker, 2000; Flexas et Medrano, 2002). Dans de telles situations et lorsque les stomates sont fermés en réponse aux facteurs de stress environnementaux, l'oxygène peut servir d'accepteur final des électrons par une phosphorylation pseudocyclique (Foyer *et al.*, 1994) ce qui est à l'origine de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans le chloroplaste tels les radicaux superoxydes ($O_2^{\cdot -}$), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et radicaux hydroxyles ($OH^{\cdot}$) (Vranova *et al.*, 2002; Meloni *et al.*, 2003). Ces molécules extrêmement réactives, peuvent ainsi interagir avec un grand nombre de macromolécules cellulaires tels, l'ADN, les protéines, lipides ainsi que les enzymes et les pigments photosynthétiques ce qui pourrait porter préjudice pour le métabolisme cellulaire (Mittler, 2002; Ozkur *et al.*, 2009).

La lumière absorbée par l'appareil photosynthétique n'est pas totalement transformée en énergie chimique. Une partie est redissipée sous forme soit de chaleur, soit en émettant un *quantum* lumineux (beaucoup plus faiblement) c'est la fluorescence.

L'émission de fluorescence par les plantes provient essentiellement de la chlorophylle a appartenant à l'antenne collectrice du photosystème II (PSII). Bien qu'elle ne représente que 3% de l'énergie totale, elle fournit d'importantes informations sur le fonctionnement de l'appareil photosynthétique et notamment celle de la phase lumineuse de la photosynthèse. Certains paramètres, calculés à partir des courbes de fluorescence, pourraient être utilisés en pratique afin de détecter suffisamment à l'avance le début de stress avant même que la détérioration de la chlorophylle et l'apparition des premiers signes visibles ne s'opèrent chez les végétaux (Zarco-Tejada *et al.*, 2002).

Cette méthode d'analyse non destructive a été longtemps utilisée en écophysiologie végétale comme indicateur de l'adaptation des plantes aux divers facteurs de stress (Ierna, 2007), notamment contre les fortes lumières (Verhoeven *et al.*, 1996), le stress hydrique (Galmès *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2007; Longenberg *et al.*, 2009), sécheresse (Ranjbarfordoei *et al.*, 2000), températures élevées et basses (Willits et Peet, 2001; Lootens *et al.*, 2004) et contre la salinité (Velitchkova et Fedina, 1998; Ranjbarfordoei *et al.*, 2006).

Pour maintenir leur survie et leur reproduction, les végétaux ont ainsi développé au cours de leur évolution différentes stratégies adaptatives face aux facteurs de stress. Elles se portent sur l'ensemble de l'appareil végétatif de l'arbre et spécialement la feuille, l'organe le plus exposé

aux variations des facteurs environnementaux (Nevo *et al.*, 2000). Elles se résument essentiellement par des ajustements morpho-anatomiques, biochimiques et physiologiques (Siti Zaharah et Razi, 2009).

3. Contraintes environnementales et ajustements morpho-anatomiques chez les végétaux

De part le caractère relativement hostile de ses étés, le climat méditerranéen a favorisé l'implantation d'espèces sclérophylles et sempervirentes. Ces espèces qui ont évolué dans des environnements différents se sont différenciées en sous unités ayant chacune des traits spécifiques à ces environnements (Zine el Abidine, 1987). En général, dans ces situations où la contrainte hydrique est importante, les végétaux ont tendance à développer des feuilles dont les caractères morpho-anatomiques sont typiques aux xérophytes. Elles consistent principalement par la présence de feuilles de petite taille, garnis de poils et de cires épicuticulaires avec des stomates enfoncés, denses et de petite taille. Ces feuilles sont en général épaisses dues à l'augmentation des épaisseurs des tissus de revêtements, de soutiens mais aussi ceux du parenchyme assimilateur. Ces dispositifs ont pour but de protéger les structures internes des plantes contre les fortes insulations qui peuvent causer des dégâts photooxydatifs des appareils photosynthétiques et d'assurer un meilleur compromis entre la photosynthèse et la transpiration dans un environnement par définition hostile.

4. Les ajustements biochimiques et physiologiques de la machinerie photosynthétique

Différents mécanismes photo-protectives sont décrits chez les plantes supérieures. Les plus importants se résument par la réduction de la quantité de photons absorbés par les feuilles par des réajustements de leurs photosystèmes notamment par déconnection de leurs antennes collectrices, réduction de leurs tailles ainsi que le nombre de centres réactionnels à l'état ouverts ou par réduction de la quantité de chlorophylle essentiellement celles des chlorophylles a (Kyparissis *et al.*, 2000; Munné-Bosch et Alegre, 2000). Aussi, l'excès d'énergie à l'origine de ces radicaux toxiques peut être consommée en photorespiration (Flexas et Mendrano, 2002; Bai *et al.*, 2008) ou dissipée sous forme de chaleur; les caroténoïdes sont impliqués dans ce mécanisme via le cycle des xanthophylles (Munné-Bosch et Alegre, 2000; Garcia-Mendoza *et al.*, 2002; Baraldi *et al.*, 2008).

5. Croissance et différenciation chez les végétaux : les métabolites secondaires

La croissance et la différenciation des végétaux est une question centrale d'un grand intérêt en biotechnologie, physiologie et en écologie végétale. Selon les conditions environnementales, le développement des végétaux résulte d'un compromis entre les métabolismes primaire et secondaire. De ceci découle la **théorie de l'équilibre entre croissance et différenciation** (« Growth Differentiation Balance Hypothesis » : G.D.B.H.) formulée par Bryant *et al.* (1983); Lorio (1986) et Herms et Mattson (1992) qui tente d'expliquer l'effet de différents facteurs environnementaux sur le métabolisme secondaire des plantes en proposant différents schémas d'allocation des ressources en fonction du contexte de croissance. Cette théorie prédit que lorsque les ressources sont largement disponibles, la croissance est favorisée au détriment de la différenciation cellulaire (e.g. production de composés de défense, maturation de la cellule, spécialisation des cellules). A l'inverse, lorsque la disponibilité en ressources diminue, la G.D.B.H. estime que les produits de photosynthèse sont plutôt alloués pour la production des métabolites secondaires qui jouent un rôle dans la défense (Johnson *et al.*, 1999). Ces théories écologiques, ne s'appuyant pas sur des observations physiologiques précises, ont toutefois été

vivement remises en question ces dernières années (Hamilton *et al.*, 2001; Koricheva, 2002; Stamp, 2004).

Les métabolites secondaires sont des molécules qui, par exclusion, n'appartiennent pas au métabolisme primaire. Ce dernier commun à tous les végétaux fait référence au processus permettant la nutrition, la croissance et le développement d'un organisme. On les retrouve que chez certains groupes taxonomiques, dans des compartiments particuliers ou à des moments précis de la vie (Theis et Lerdau, 2003).

Du point de vue synthétique, ces métabolites secondaires peuvent aussi être subdivisés en deux catégories: ils peuvent être de type **phytoanticipines** ou de constitution c.a.d. synthétisés par la plante de manière permanente même en absence d'un facteur de stress par opposition aux métabolites induits ou **phytoalexines** qui sont synthétisés uniquement en cas de stress et sont donc formés de novo (Litvak et Monson, 1998; Gershenzon *et al.*, 2000; Mayer, 2004; Wendehenne, 2005).

5.1. Les terpénoïdes

Parmi les métabolites secondaires non azotés, les terpénoïdes constituent un groupe de molécules très différentes tant d'un point de vue structural que fonctionnel. Avec près de 40000 structures moléculaires (Yu et Utsumi, 2009), ils constituent probablement la classe la plus vaste et la plus diversifiée de composés organiques végétaux (Gershenzon et Croteau, 1991).

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles et hydrophobes. De nombreux groupes chimiques sont présents (aldéhydes, cétones, éthers, esters et alcools) et peuvent présenter une structure acyclique ou bien cyclique (Kesselmeier et Staudt, 1999) (**Fig. 2**). Leur grande diversité structurale trouve son origine dans la diversité des terpènes synthases; enzymes responsables de leur synthèse (Degenhardt *et al.*, 2009). Aussi, chaque enzyme peut produire un bouquet dépassant 50 composés terpéniques à partir d'un seul substrat (Gershenzon et Kreis, 1999).

Les terpénoïdes sont synthétisés via l'unité commune élémentaire C₅; l'isopenthyl pyrophosphate (IPP) ou isoprène et son isomère le diméthylallyl-diphosphate (DMAPP) (Dudareva *et al.*, 2005). Lorsque le composé terpénique comprend une seule unité C₅, il est appelé hémiterpène, l'isoprène est le plus représentatif chez les végétaux. Lorsque le composé est constitué de 2, 3, 4, 6 ou 8 unités C₅, il est respectivement appelé monoterpène (C₁₀), sesquiterpène (C₁₅), diterpène (C₂₀), triterpène (C₃₀) ou tetraterpène (C₄₀). De part leur structure de base semblable à celle de l'isoprène, l'ensemble de ces composés terpéniques est souvent rassemblé sous le nom d'isoprénoïdes

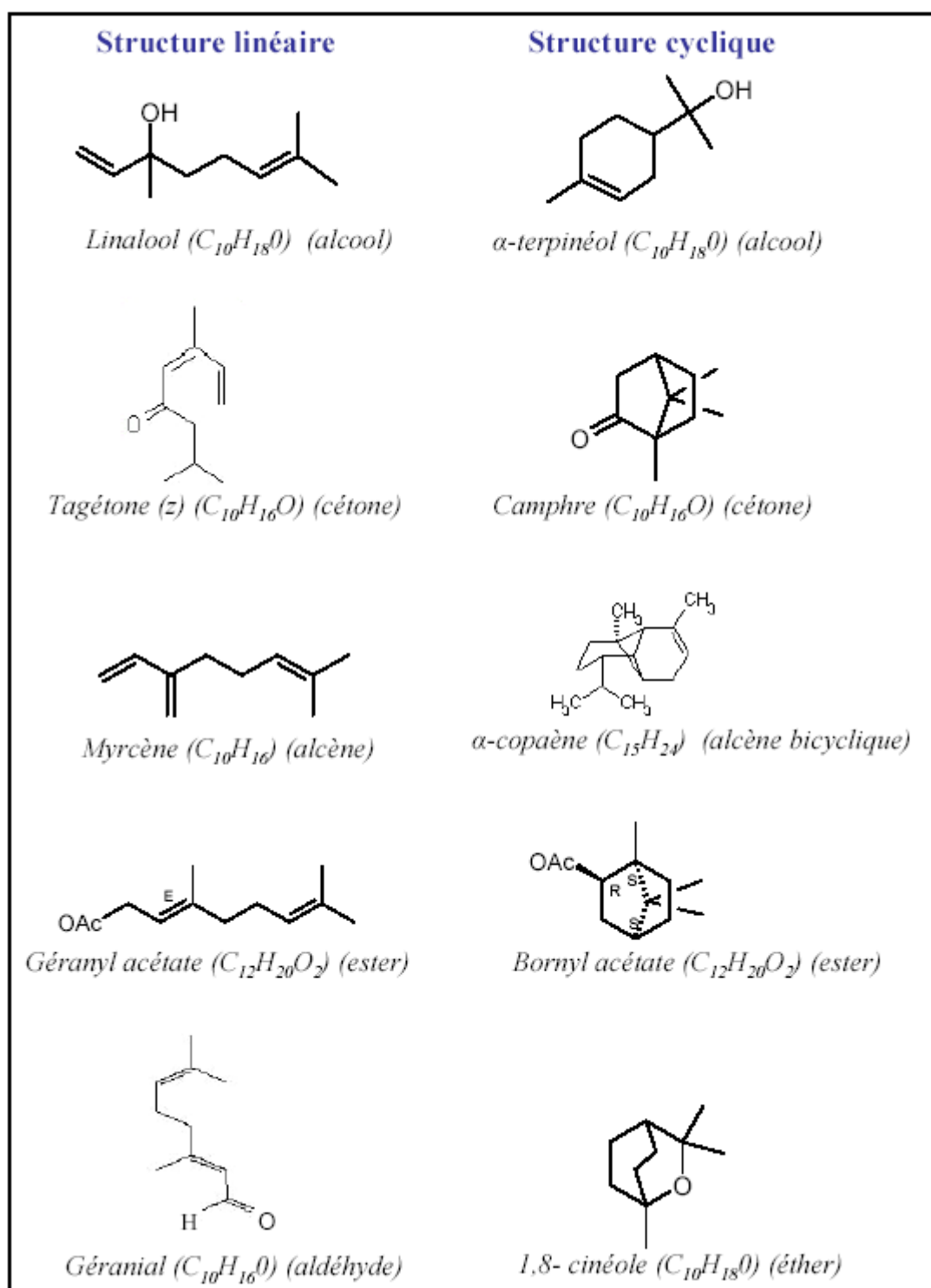


Fig. 2. Certains exemples des types chimiques représentés parmi les composés terpéniques (Ormeño, 2006).

5.1.1. Synthèse des terpénoïdes

Chez les plantes supérieures, les isoprénoïdes sont synthétisés par deux voies biochimiques indépendantes, localisées dans différents compartiments intracellulaires (**Fig. 3** et **4**). La voie de l'**acide mévalonique** classique qui a lieu dans le cytosol et le réticulum endoplasmique

(Sharkey, 1991), lieu de synthèse des précurseurs de sesquiterpènes et triterpènes, à partir des produits de la glycolyse des sucres (Acetyl-CoA) (**Fig. 3A**). (Zeidler, 1997; Newman et Chappell, 1999; Dudareva *et al.*, 2004). La voie de **deoxyxylulose-5-phosphate** (DXP) qui fut découverte chez les organismes procaryotes, puis généralisée selon les dernières recherches aux chloroplastes des plantes supérieures donne naissance aux précurseurs de l'isoprène, monoterpènes, diterpènes et tetraterpènes et ce à partir des produits issus directement de la photosynthèse; le pyruvate et glycéraldéhyde 3-phosphate (Lichtenthaler, 1999; Lichtenthaler, 2000; Kirby et Keasling, 2009) (**Fig. 3B**). Bien que ces deux voies sont très différentes, des études récentes montrent qu'elles ne sont pas totalement indépendantes (Estévez *et al.*, 2001; Towler et Weathers, 2007).

Certains composés terpéniques sont présents chez la plupart des espèces et par conséquent ils sont importants pour la croissance des végétaux et leur développement (Chappell, 1999). C'est le cas des hormones (acide abscisique C_{15} et gibbérellines C_{20}), des transporteurs d'électrons (plastoquinones et ubiquinones), composés dérivés de terpènes qui sont des constituants membranaires (phytostérols) et les pigments photosynthétique (C_{40} , carotènes et xanthophylle). D'autres tels les monoterpènes (C_{10}) et les sesquiterpènes (C_{15}) sont considérés comme des métabolites secondaires (Dudareva *et al.*, 2004) car ils se retrouvent que chez certaines espèces ou groupes taxonomiques (absents chez les Ranunculales, Violales ou Primulales) (Guignard *et al.*, 1985).

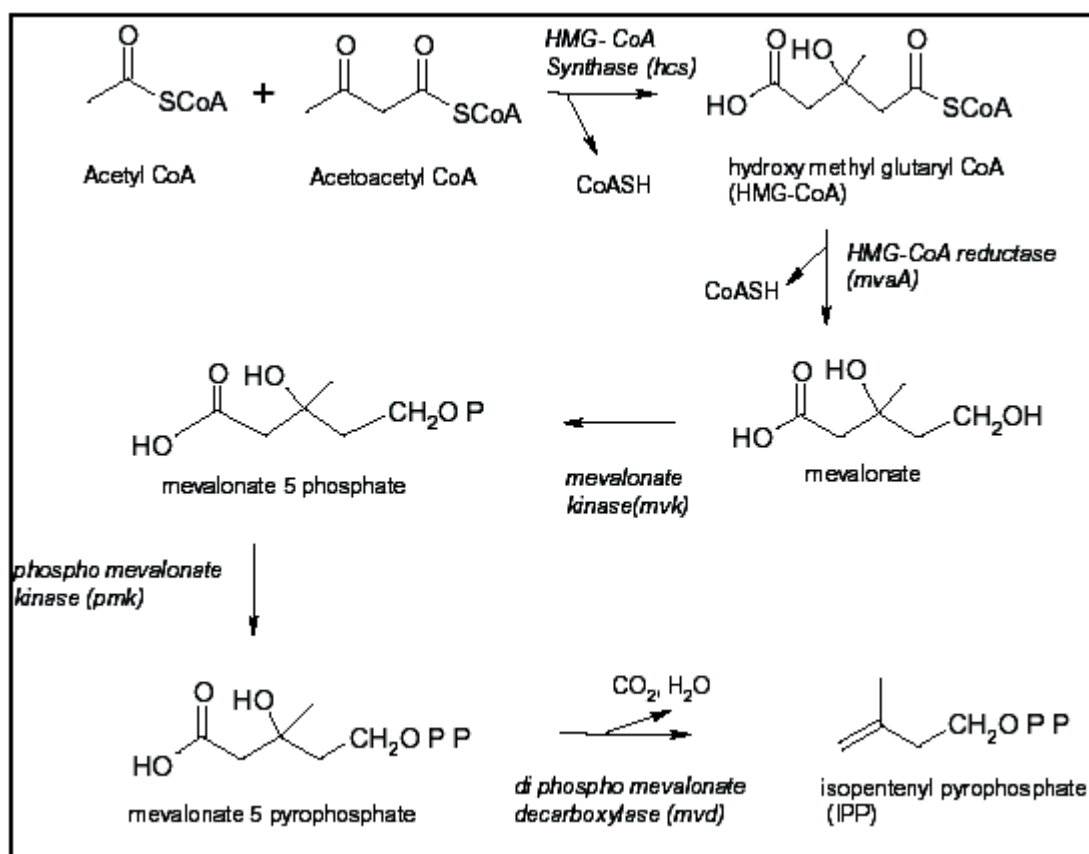


Fig. 3A. Synthèse de l'isopentényl pyrophosphate (IPP) à l'origine de tous les terpénoïdes : voie de l'acide mévalonique (Morin-Savy, 2005).

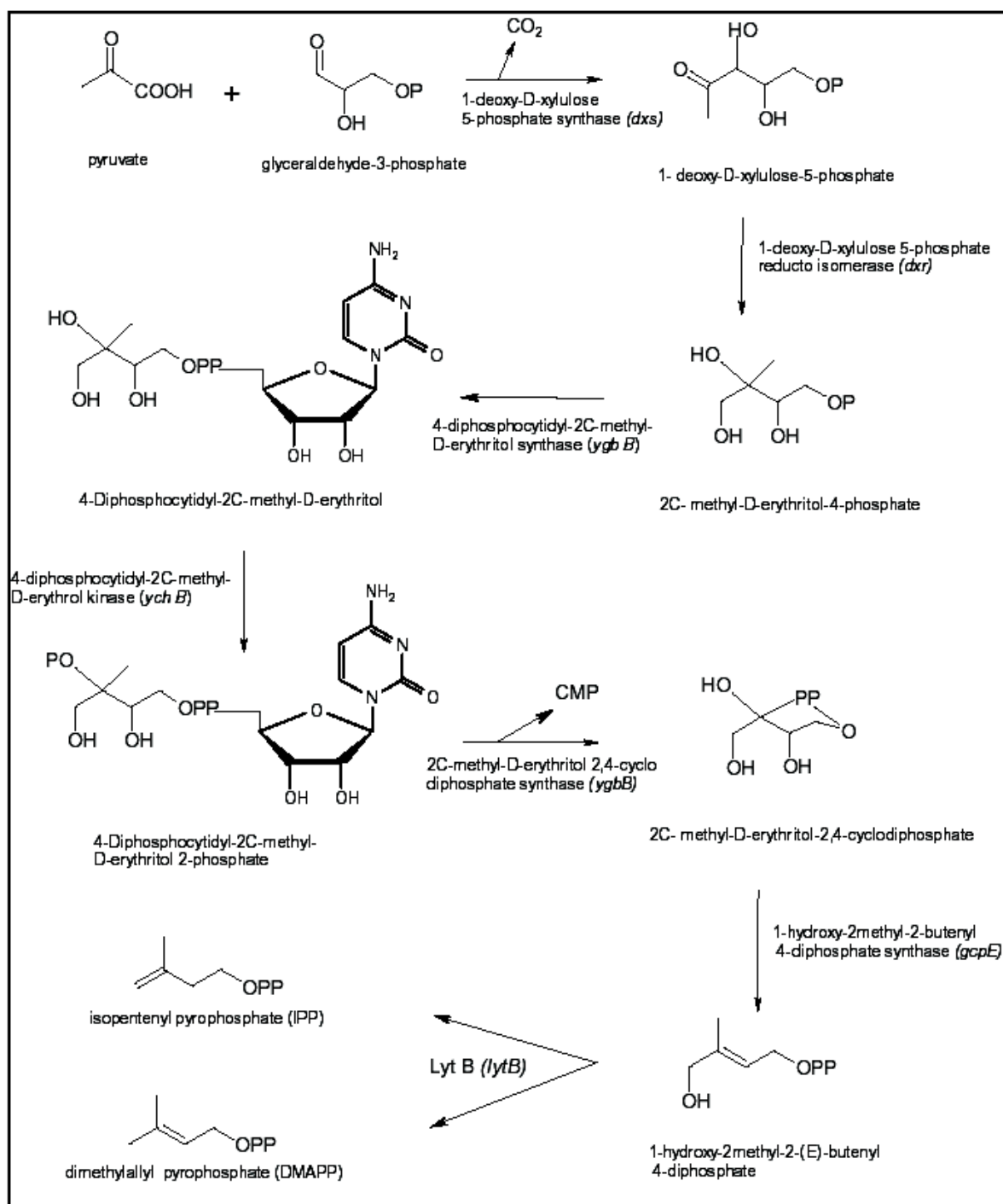


Fig. 3B. Synthèse de l'isopentényl pyrophosphate (IPP) à l'origine de tous les terpénoïdes : voie de deoxyxylulose 5-Phosphate (DXP) (Morin-Savy, 2005).

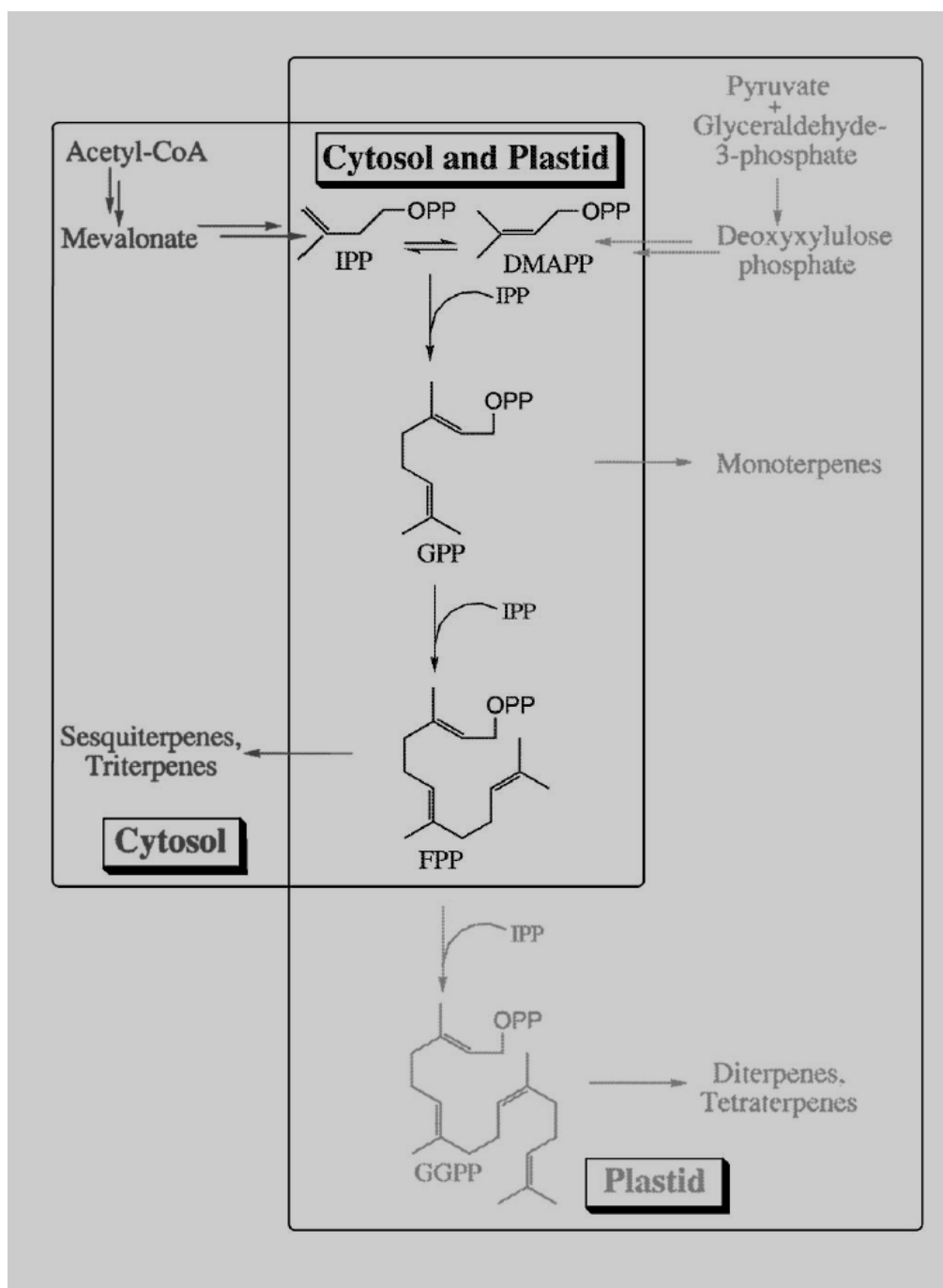


Fig. 4. Lieu de synthèse des différentes classes de terpènes; dans le plaste et dans le cytoplasme à partir de l'IPP et le DMAPP (Trapp et Croteau, 2001).

Différents auteurs notent que ces composés montrent une grande variabilité dans le temps et sont dépendant de la distribution géographique des espèces (Lang, 1994; Staudt *et al.*, 2000; Hillig, 2004; Smelcerovic *et al.*, 2007). Par conséquent, nombreuses études mettent en relation les constituants terpéniques avec les questions de population et de systématique des plantes (Adams, 1999; Naydenov *et al.*, 2006).

5.1.2. Organe de stockage des terpènes

Chez la plupart des végétaux, une fois synthétisés, les terpènes sont stockés soit dans les poils sécréteurs (cas des Labiacées et Lamiacées) (Covello *et al.*, 2007; Giuliani et Bini, 2008; Biswas *et al.*, 2009; Gairola *et al.*, 2009), dans des cavités ou poches sécrétrices (cas des Myrtacées, Rutacées et Burséracées, et *Pistacia*) ou dans les canaux résinifères (cas des Résineux) (Fahn, 1979; Gershenzon et Croteau, 1991). Ils peuvent cependant être directement émis (Composés Organiques Volatils; COV) dans l'atmosphère juste après leur synthèse chez certaines espèces ne possédant pas d'organes de stockage dans les feuilles (Loreto *et al.*, 2001) comme *Quercus ilex* et *Q. suber* (Staudt et Seufert, 1995; Loreto *et al.*, 1996a; Niinemets *et al.*, 2002).

5.1.3. Fonction écologique des terpènes

Les terpènes assurent la défense directe (répulsif) contre les agents pathogènes et herbivores (Huber *et al.*, 2004; Thoss et Byers, 2006; Kelen et Tepe, 2008), ou d'une façon indirecte par attraction de parasitoïdes ou prédateurs des herbivores attaquant la plante (Dicke et Van Loon, 2000; Theis et Lerda, 2003). Ils permettent l'attraction des insectes pollinisateurs (Langenheim, 1994), servent de médiateur dans la communication entre les plantes et les autres organismes (Peñuelas et Llusà, 2003, 2004), ou participent aux réponses allélopathiques (Fischbach *et al.*, 2002; Fernandez *et al.*, 2009). Aussi, ils agissent comme des solvants pour des molécules ayant un poids moléculaire plus important empêchant la solidification des composés plus lourds, ce qui pourrait provoquer le blocage du système de transport chez la plante (Theis et Lerda, 2003).

Les terpènes sont par excellence des composés de protection des végétaux face à des stress abiotiques. C'est le cas de l'isoprène (Singsaas et Sharkey, 1998; Hanson et Sharkey, 2001; Sharkey *et al.*, 2001), les monoterpènes et certains sesquiterpènes (Loreto *et al.*, 1998; Delfine *et al.*, 2000; Singsaas, 2000; Copolovici *et al.*, 2005; Llusà *et al.*, 2005; Peñuelas *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2008) qui permettent d'assurer une meilleure cohésion des membranes cellulaires notamment celles des thylakoïdes de façon à accroître leur résistance aux chocs thermiques mais aussi de réguler le métabolisme dans les chloroplastes (Logan et Monson, 1999; Logan *et al.*, 2000). Leur rôle de photoprotection face aux fortes intensités lumineuses a également été mis en avant (Peñuelas et Munne-Bosch, 2005). En effet, l'exposition des végétaux à des isoprénoïdes exogènes (Delfine *et al.*, 2000), atténue ou retarde l'endommagement de l'appareil photosynthétique de manière non ubiquiste (Loreto, 2002) ce qui conforte l'hypothèse précédente.

Mais l'intérêt de ces molécules, à l'instar des caroténoïdes (de Pascale *et al.*, 2001; Morin-Savy, 2005; Gallè *et al.*, 2007) et l' α -tocophérol (Munné-Bosch, 2005), tient également de leurs propriétés antioxydantes notamment contre les dommages engendrés par de fortes concentrations d'ozone ou d'espèces réactives d'oxygène (ROS) (Affek et Yakir, 2002; Grassmann *et al.*, 2002; Peñuelas et Llusà, 2002; Peñuelas et Llusà, 2003; Velikova *et al.*, 2007; Vickers *et al.*, 2009). De part leur forte réactivité liée à la présence de doubles liaisons dans leur formule chimique et leur caractère lipophile (Peñuelas et Llusà, 2002; Chen *et al.*, 2009), ces isoprénoïdes se combinent avec ces molécules toxiques dans les espaces intercellulaires et les désactivent physiquement (Heiden *et al.*, 1999; Bonn et Moortgat, 2003). En effet, les derniers résultats obtenus par Chen *et al.* (2008) révèlent que l'inhibition de la synthèse des monoterpènes chez *Hevea brasiliensis* accélère les stress oxydatifs chez cette espèce par augmentation des niveaux de H₂O₂ et de MDA et par conséquent induit le

renforcement d'autres systèmes antioxydants qui compensent l'absence de monoterpènes, à l'origine comme système antioxydant.

5.1.4. Facteur de variation des terpènes

5.1.4.1. Facteurs biotiques

La synthèse des terpènes chez les végétaux est d'origine génétique (Pichersky et Gang, 2000). Cependant, sa composition est modulée par certains facteurs biotiques et abiotiques (Letchamo et Vomel, 2001; Sudha et Ravishankar, 2002; Peñuelas et Llusà, 2003; Naghdi Badi *et al.*, 2004).

Parmi les facteurs biotiques, les pathogènes et herbivores (Gatehouse, 2002; Hoballah *et al.* 2002; Oppenheim et Gould, 2002; Mayer, 2004; Mumm *et al.*, 2004; Arimura *et al.*, 2008) sont les plus remarquables en augmentant les contenues en terpènes, essentiellement ceux des monoterpènes chez les végétaux ravagés.

Aussi, la quantité de terpènes est variable selon le sexe des arbres chez les espèces dioïques (Tzakou *et al.*, 2007), l'organe (feuilles, fleurs ou fruits) (Flamini *et al.*, 2004; Kivcak *et al.*, 2004, Vidrich *et al.*, 2004), la position des feuilles sur l'arbre (Gambliel et Cates, 1995; Barnola *et al.*, 1997), le tissu (Latta *et al.*, 2000; Eberhardt *et al.*, 2009) et selon la compétition entre les plantes (Ormeño *et al.*, 2007).

5.1.4.2. Influence des facteurs environnementaux

5.1.4.2.1. Température et luminosité

La synthèse des isoprénoïdes semble également être modulée par des facteurs abiotiques. Nous citons la température, facteur écologique régulant l'activité des terpènes synthases (Fischbach *et al.*, 2002) et aussi par la lumière (Loreto *et al.*, 1996b) qui génère par le biais de la photosynthèse le glycéraldéhyde-3-phosphate (Sharkey et Yeh, 2001) et de l'énergie chimique (ATP et NADPH) qui sont indispensables pour la synthèse des isoprénoïdes. Ces deux facteurs écologiques, variables selon les saisons montrent que le taux de terpénoïdes est maximal au printemps (Lusià *et al.*, 2006; Barra *et al.*, 2007; Gardeli *et al.*, 2008; Hussain *et al.*, 2008), stade coïncidant avec une meilleure reprise végétative ou dans certains cas, le maximum est enregistré en automne (Lusià et Peñuelas, 2000).

5.1.4.2.2. Aridité

L'effet de l'aridité sur la production de terpènes a été évoqué de façon exhaustive. En général, le stress hydrique induit une augmentation des contenus en isoprénoïdes des feuilles (Lusià et Peñuelas, 1998; Turtola *et al.*, 2003; Delfine *et al.*, 2005; Peñuelas *et al.*, 2005; Blanch *et al.*, 2009), mêmes si certaines tendances inverses ont déjà été signalées chez certaines espèces comme *Cistus albidus* (Lusià *et al.*, 2010).

Aussi, des changements significatifs des émissions de terpènes ont été signalés chez beaucoup d'espèces méditerranéennes en réponse aux conditions de sécheresse (Ormeño *et al.*, 2007a; Lavoie *et al.*, 2009). Les mêmes résultats ont été signalés chez *Erica multiflora* et *Globularia alypum* (Lusià *et al.*, 2009).

5.1.4.2.3. *Altitude*

L'altitude est un autre facteur de stress abiotique qui menace surtout les espèces de faible altitude comme le lentisque. De nombreuses études ont démontré que ce facteur influence de près la phytochimie des végétaux (Naydenov et Alexandrov, 1999; Ibanez et Usubillaga, 2006; Haider *et al.*, 2009). Il a été observé une augmentation des quantités des huiles volatiles (Vokou *et al.*, 1993; Johnson *et al.*, 1999) mais aussi celles des flavonoïdes chez les végétaux de haute altitude en réponse aux faibles températures (Spitaler *et al.*, 2006; Bilger *et al.*, 2007, Spitaler *et al.*, 2008; Albert *et al.*, 2009), aux fortes radiations (Staudt et Seufert, 1995; Loreto *et al.* 1998; Wassner et Ravetta, 2005), notamment l'exposition aux UV-B (Zavala et Ravetta, 2002; Jaakola *et al.*, 2004) et l'ozone (Kainulainen *et al.*, 2000).

5.1.4.2.4. *Autres facteurs (facteurs édaphiques et méthode d'extraction).*

La synthèse des terpénoïdes peut aussi être modulée par la disponibilité en éléments nutritifs dans le sol (Lee et Yang, 2005; Yang *et al.*, 2005; Ormeño *et al.*, 2008; Blanch *et al.*, 2009), mais aussi selon la méthode d'extraction utilisée (Adams, 1991; Lo Presti *et al.*, 2008).

6. Objectifs

Le genre *Pistacia* de la famille des Anacardiaceae comprend 11 espèces toutes dioïques (Zohary, 1952). *P. atlantica* Desf. et *P. lentiscus* L. sont deux espèces qui se retrouvent à l'état sauvage en Algérie et sont couramment utilisées comme porte greffe de *P. vera*. Leurs intérêts pharmaceutiques et antimicrobiens ont été prouvés par divers auteurs (Barra *et al.*, 2007; Benhammou *et al.*, 2008; Gardeli *et al.*, 2008).

Ces espèces sont des xérophytes de part leur parenchyme palissadique très développé et leur système racinaire à croissance rapide (Al-Saghir *et al.*, 2006).

Le pistachier de l'Atlas ou bétoum, est un arbre héliophile (Zohary, 1996) caractéristique des régions arides. Il présente une plasticité écologique très large allant des régions sub-humides jusqu'au Saha Central algérien (Quézel et Médail, 2003).

Cette espèce qui jadis abondante, ne cesse de régresser d'année en année suite à des actions anthropiques. Des problèmes de régénération naturelle subsistent, les jeunes plants vivants que l'on observe sont ceux qui poussent à l'abri que leur offrent les touffes épineuses de *Ziziphus lotus* (Ozenda, 1977).

Le lentisque quant à lui est un arbre de moyenne altitude (Castro-Díez *et al.*, 1998), considéré comme l'une des espèces les plus tolérantes aussi bien à la sécheresse (Gratani, 1995; Filella *et al.*, 1998; Vilagrosa *et al.*, 2003; Tattini *et al.*, 2006; Ozturk *et al.*, 2010) qu'à la salinité (Armas et Pugnaire, 2009; Barazani et Golan-Goldhirsh, 2009; Armas *et al.*, 2010) grâce aussi à son système racinaire très pivotant. Il est très recommandé dans les reboisements des zones arides (Cortina *et al.*, 2008).

Les espèces du genre *Pistacia* stockent des quantités considérables de terpènes dans leurs feuilles (Fahn, 1979). Les huiles essentielles des espèces du genre *Pistacia* ont fait objet d'études par plusieurs auteurs, en particulier celles du lentisque (Fernandez *et al.*, 2000; Zrira *et al.*, 2003; Ben Douissa *et al.*, 2005; Gardeli *et al.*, 2008; Mecherara-Idjer *et al.*, 2008) et du pistachier de l'Atlas (Delazar *et al.*, 2004; Barrero *et al.*, 2005; Tzakou *et al.*, 2007; Gourine *et al.*, 2009). Cependant, l'étude de la composition terpénique en relation avec les conditions écologiques du milieu chez les espèces de ce genre sont très rares et en Algérie en particulier.

Notre étude fait suite à mes travaux antérieurs réalisés en 2003 dans le cadre de mon Magister et qui ont pour but d'appréhender les stratégies adaptatives de *P. atlantica* aux conditions d'aridité croissante en Algérie par une approche stomatique. A l'exception de certaines approches morphologiques évoquées par Belhadj (2007) chez quelques populations algériennes du pistachier de l'Atlas en relation avec les conditions du milieu, les stratégies développées par le pistachier de l'Atlas et le lentisque pour s'adapter aux contraintes défavorables de l'environnement sont très méconnues.

Les travaux présentés dans ce rapport ont donc pour objectif:

- L'exploration de la variabilité des différentes populations du pistachier de l'Atlas en Algérie et d'appréhender leurs mécanismes d'adaptation à l'aridité par l'étude des paramètres morpho-anatomiques et la composition terpénique des feuilles. Aussi, nous avons étudié l'effet du stress hydrique chez des plantules du pistachier de l'Atlas par des mesures d'échanges gazeux et de fluorescence de la chlorophylle.

- L'exploration de la variabilité de différentes populations du lentisque récoltées en Algérie dans différentes altitudes par une étude de leurs contenus en terpènes.

- Appréhender les stratégies adaptatives du lentisque *in situ* (France) dans 3 sites très contrastés par des mesures de la fluorescence de la chlorophylle combinées aux dosages de pigments et aux mesures du potentiel hydrique. De mieux comprendre l'effet de NaCl sur le comportement photosynthétique des plantules de lentisque originaires de Montredon, station littorale en France. L'étude de la compartimentation du sodium dans la feuille de plantule a aussi été explorée.

Le plan de ce rapport sera découpé selon les trois axes de recherche présentés, chacun faisant l'objet d'au moins un article soit publié ou soumis et en cours de révision.

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

1. Les espèces étudiées

Le genre *Pistacia* de la famille des Anacardiaceae comprend au moins 11 espèces ayant en quasi-totalité une aire de distribution tropicale ou subtropicale (**Fig. 5**) (Zohary, 1952; Kokwaro et Gillett, 1980). Il compte quatre régions phytogéographiques: méditerranéenne, irano-touranienne, sino-japonaise et mexicaine (Seigue, 1985).

De part sa dioécie et ses fleurs nues, *Pistacia* est un genre particulier des Anacardiaceae pouvant constituer une famille à part: les Pistaciaceae (Gaussen *et al.*, 1982).

1.1. *Pistacia lentiscus* L.

1.1.1. Aire de répartition

L'aire du lentisque s'étend sur tout le bassin méditerranéen (Verdū et García-Fayos, 2002) et se rencontre dans les Iles Canaries et au Portugal (**Fig. 6A**) (Alyafi, 1979). En Algérie, il occupe l'étage thermo-méditerranéen. Sa limite méridionale se situe aux environs de Saida, sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée.

1.1.2. Caractères botaniques et écologiques

Le lentisque est un arbuste sclérophylle à feuilles persistantes, à odeur de résine fortement âcre et à croissance très lente. D'une hauteur de 2 m, il peut cependant atteindre la taille d'un arbre lorsqu'il est dans des sites humides et protégés (Munné-Bosch et Peñuelas, 2003).

Cette espèce est classée dans la section de *Eu-Leniscus* à côté de *P. weinmannifolia* Poisson. et *P. saportae* (Zohary, 1952). Les feuilles ont une durée de vie de 2 ans (Ain-Lhout *et al.*, 2004) à rachis ailé, paripennées, composées de 2-3 paires de folioles coriaces, vert sombre qui sont largement lancéolées, obtuses au sommet, brillantes au dessus et de taille allant de 1,5-3 cm.

Les fleurs sont sessiles, composées de 3-5 sépales. Les fleurs mâles étant pourvus de 5 étamines, produisant environ 47.10^3 - 6.10^3 grains de pollen par fleur. Elles sont regroupées en inflorescences de 8-10 fleurs (Jordano, 1989). Les fleurs femelles possèdent un ovaire à trois carpelles uniloculaires, avec un ovule anatrope uniovulé, surmonté d'un style court à 3 stigmates (Grundwag, 1976). Elles sont regroupées en inflorescence de 4-21 fleurs.

Le fruit est une drupe de 3-4 mm de diamètre, de forme ovoïde-globuleux et peu comprimé (Grundwag, 1976). Il est de couleur rouge au début puis devient noirâtre à maturité à la fin de la saison hivernale (Verdū et Garcia-Fayos, 1998). Souvent, une part des fruits du lentisque, à l'instar de toutes autres espèces du genre *Pistacia* sont vides soit par avortement des embryons ou par parthénocarpie, variable en fonction des conditions climatiques (Grundwag, 1976, Jordano, 1989; Verdū et Garcia-Fayos, 1998; Özeker *et al.*, 2006). Les images de certains caractères botaniques de cette espèce sont rapportées dans la **Fig. 7**.

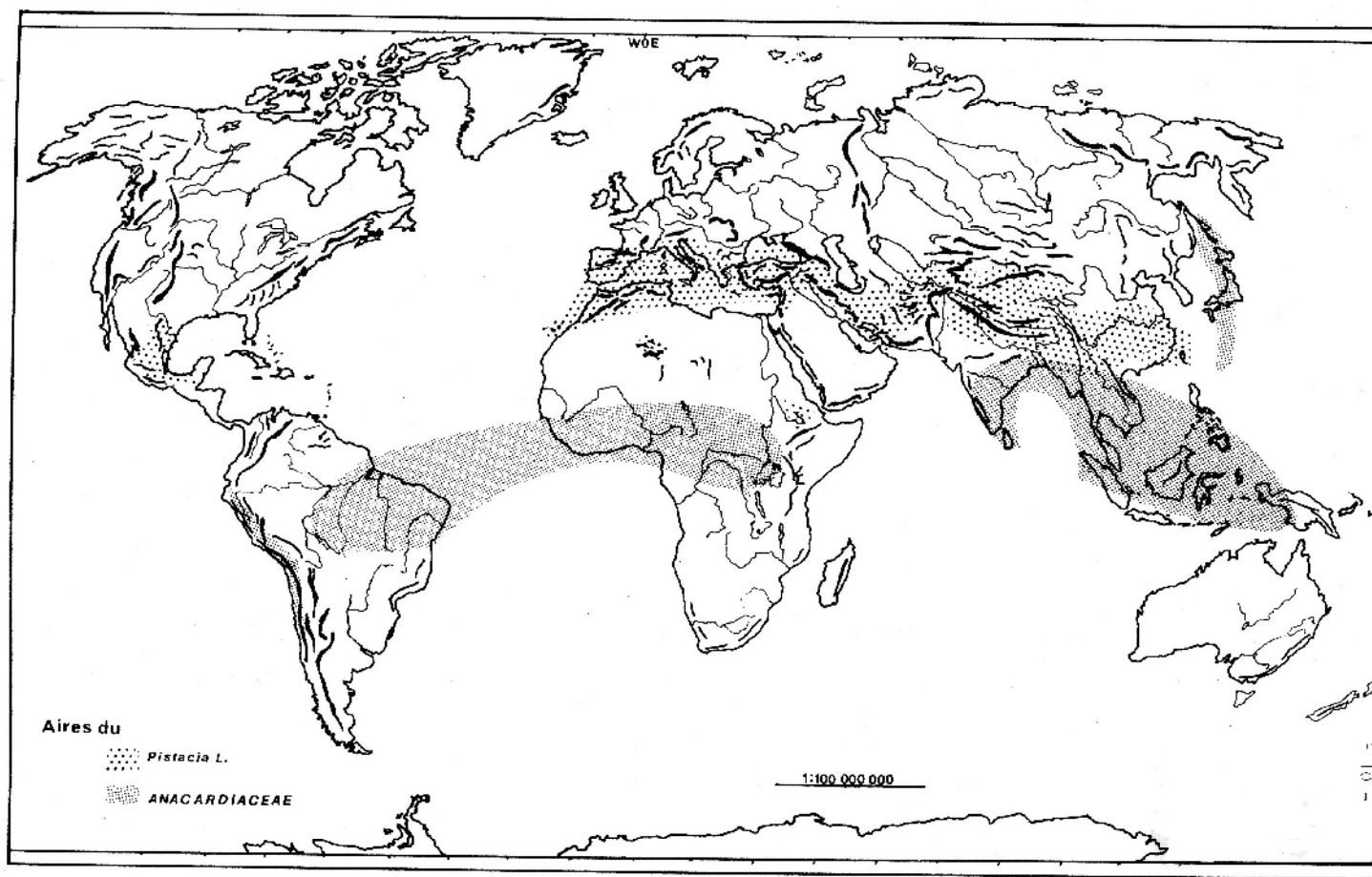


Fig. 5. Aire de répartition de la famille des Anacardiacées dans le monde (Alyafi, 1979).

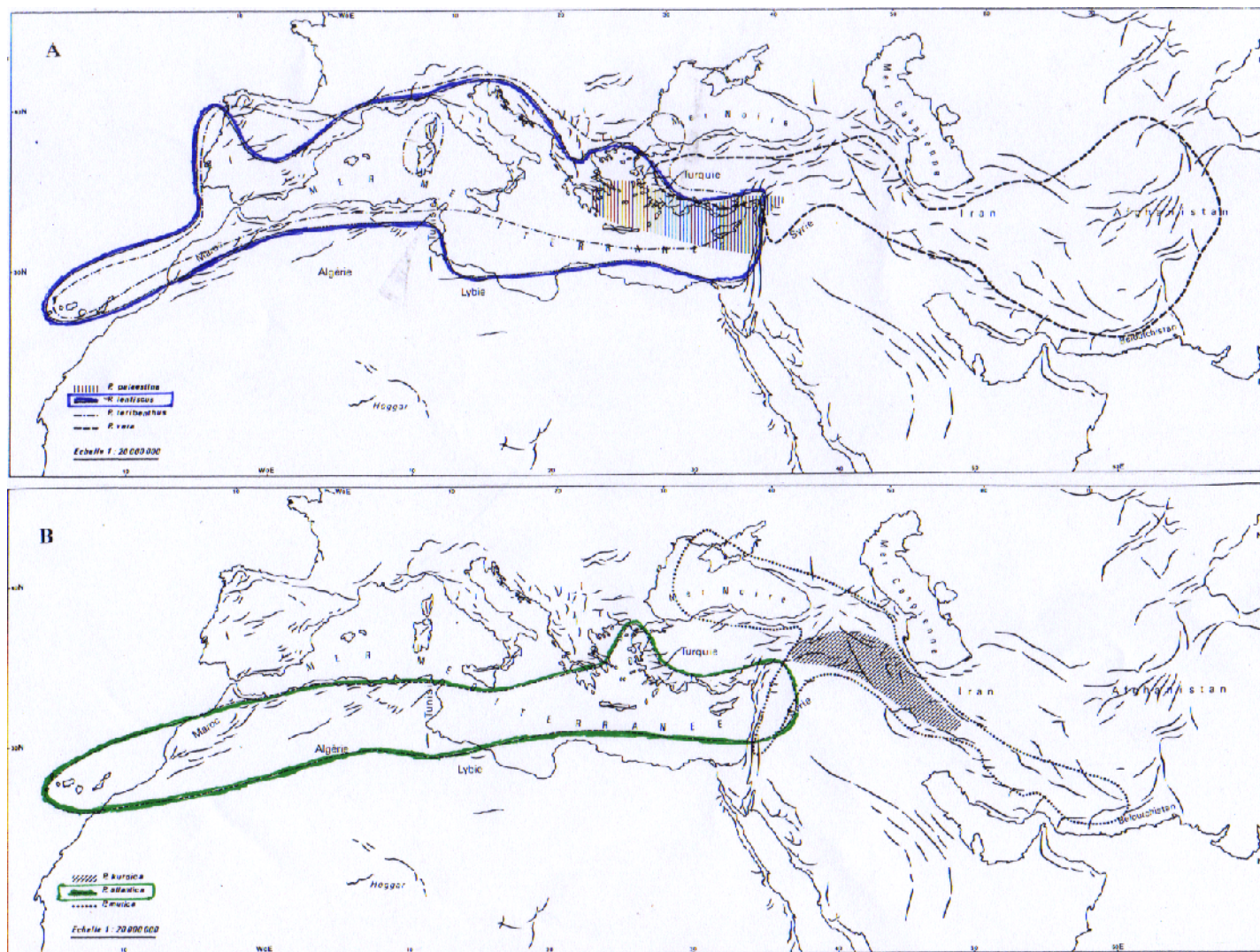


Fig. 6. Aire de distribution des espèces du genre *Pistacia* dans le monde. A: *P. lentiscus* L. (—) et B: *P. atlantica* (—) (Alyafi, 1979)



Fig. 7. Certains caractères botaniques chez *P. lentiscus*. **A:** inflorescence mâle, **B:** arbuste en stade de fructification et **C:** fruits en stade de développement.

B

La phénologie du lentisque a fait objet d'étude par Castro-Diez et Montserrat-Marti (1998) et Martinez-Pallé et Arone (2000). Contrairement aux arbres femelles qui continuent à développer leur fruit durant la période hivernale, les arbres mâles en finissant précocement leur cycle phénologique, ont tout le temps pour durcir leurs tissus ce qui les rend à l'abri des premières gelées automnales.

C'est une espèce indifférente aux propriétés physico-chimiques du sol mais préfère des sols à faible concentration en phosphore et potassium conjugués avec des concentrations différentes en carbonates de calcium et en azote (Dogan *et al.*, 2003). De part son houppier composé de branches imbriquées et denses, le lentisque assure la protection du sol et crée les conditions favorables pour l'humification de la matière organique et l'enrichissement de ses propriétés biologiques (Diaz Barradas et Correia, 1999).

1.2. *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica*

Le pistachier de l'Atlas encore appelé bétoum en arabe, iggh en berbère a été décrit premièrement par Desfontaines en 1789. C'est une essence très ancienne, son fruit est rencontré depuis le Crétacé Moyen (Deyson, 1982).

P. atlantica appartient à la section *Butmella* (Zohary, 1952). Elle est subdivisée en 4 sous espèces : *latifolia*, *kurdica*, *kabulica* et enfin *atlantica*. Cette dernière est la seule présente en Algérie (Zohary, 1952; Alyafi, 1979; Monjauze, 1980).

1.2.1. Aire du pistachier de l'Atlas

P. atlantica est essentiellement un arbre de l'étage bioclimatique aride et accessoirement de l'étage semi-aride (Monjauze, 1980; Quézel et Médail, 2003). Il s'étend depuis les Iles Canaries à l'ouest jusqu'au Proche Orient vers l'est (**Fig. 6B**). En Algérie, on le retrouve à l'état de groupements isolés d'Oran et Ain Sefra à l'ouest jusqu'à la Tunisie à l'est. Il est présent aussi dans l'Atlas saharien, dans le secteur du Sahara septentrional et dans le Hoggar (**Fig. 8**). Il est associé dans le proche orient à *Quercus ithaburensis* et en Afrique du Nord à *Ziziphus lotus* (Seigue, 1985).

1.2.2. Caractères botaniques du pistachier de l'Atlas

Le pistachier de l'Atlas est un arbre à feuilles caduques, pouvant atteindre 15 à 25 m de haut. Il est connu par sa longue longévité (Zohary, 1987), des sujets de 2,5 m de circonférence ont un âge voisin de 200 ans et pour les plus vieux d'entre eux, ils peuvent atteindre 300 ans (Monjauze, 1968). La frondaison est en boule dans le jeune âge puis devient hémisphérique puis tard (Nègre, 1962). Ses racines sont très pivotantes pouvant atteindre 5 m de profondeur (Monjauze, 1980).

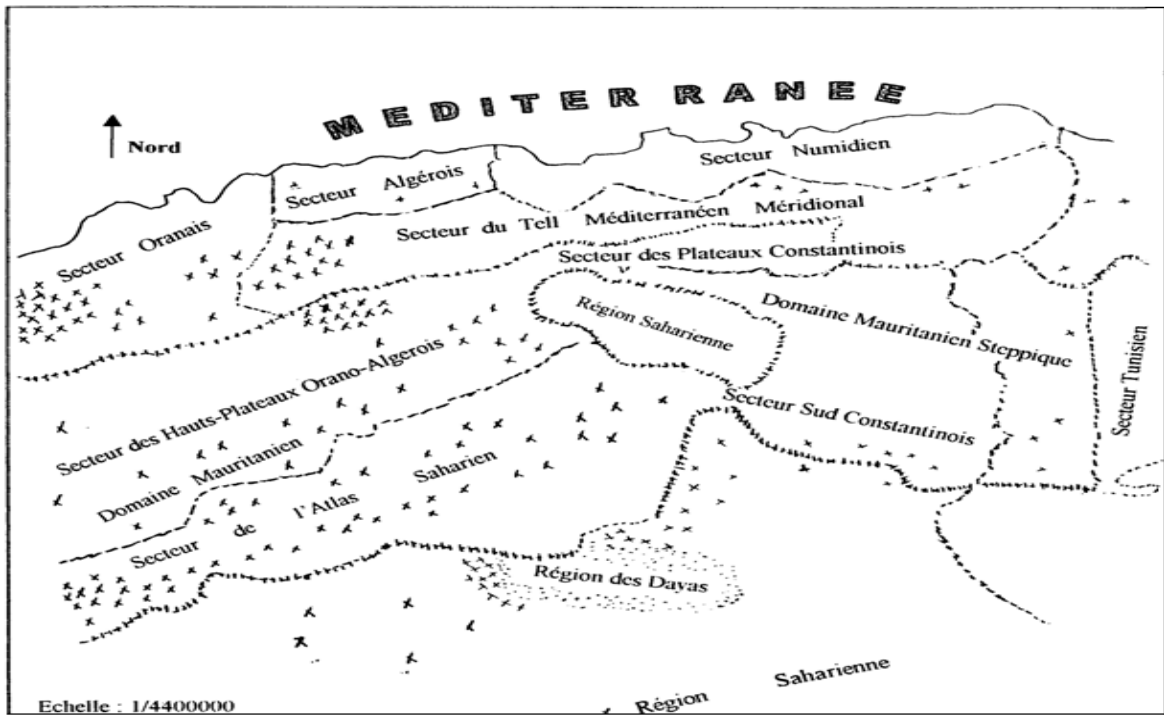


Fig. 8. Aire de répartition du pistachier de l'Atlas dans le Nord Algéro-Tunisien (Monjauze, 1968)

Les feuilles à vocation fourragères (0,35 U.F.) sont imparipennées, composées de 3-4 paires de folioles (Monjauze, 1980). Elles ont une forme lancéolée à ovoïde-oblongue selon les provenances (Yaltirik, 1967; Zohary, 1987). Elles mesurent environs 8 à 20 cm de long (Boulos, 2000). Le pétiole est non ailé et mesure 3 à 5 cm de long (Meikle, 1977 *in* Behadj, 2007). Le rachis est aplati (Zohary, 1987) et à peine ailé (Tutin *et al.*, 1981).

A l'exception, des autres espèces de ce genre qui sont glabres, les feuilles du pistachier de l'Atlas, sont ciliées sur les marges et recouvertes de poils unicellulaires et glanduleux sur le reste du limbe (Alyafi, 1979; Belhadj, 2007).

Les feuilles des deux espèces sont dorsiventrals et de type C₃. Deux couches de parenchyme palissadique sont observées chez *P. lentiscus* et une seule seulement chez *P. atlantica* (El-Oqlah, 1995; Al-Saghir, 2006; Ait Said *et al.*, 2009). Deux types d'oxalates de calcium (cubiques et en oursins) sont présents essentiellement dans le collenchyme et dans le parenchyme lacunaire (Ait Said *et al.*, 2009).

La floraison débute le mois de février, le plus souvent 2 à 4 semaines avant la poussée des bourgeons végétatifs (Grundwag, 1976). L'inflorescence mâle est une panicule et l'inflorescence femelle est une grappe. La fécondation est anémophile (Alyafi, 1979). Le fruit est gros comme un pois d'une taille de 5-7 mm de diamètre (Kaska, 1994). Il est rougeâtre au début puis virant au bleu à maturité à partir de mois juillet (Danin, 1983). Les images de certains caractères botaniques de cette espèce sont rapportées dans la **Fig. 9**.

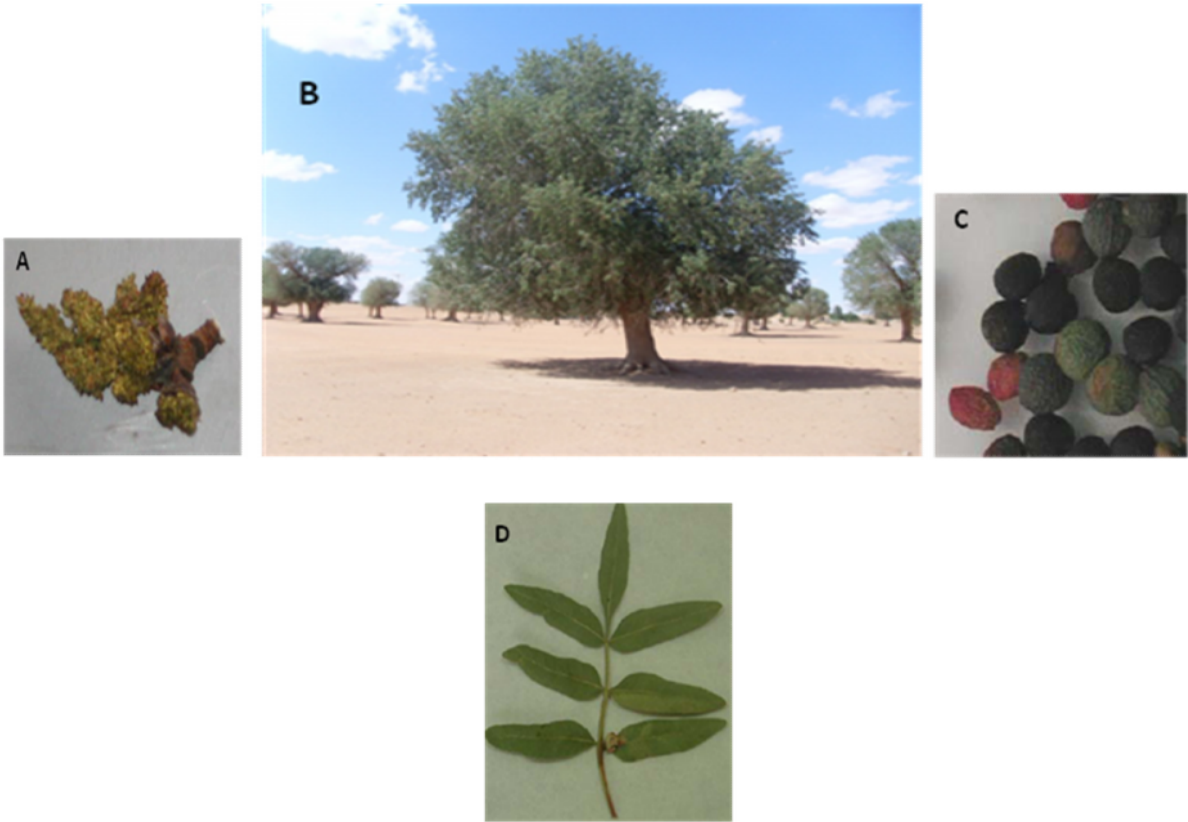


Fig. 9. Certains caractères botaniques chez *P. atlantica*: **A**, inflorescence mâle; **B**, arbre centenaire; **C**, fruits à différents stades de maturation; **D**, feuille.

Du point de vue édaphique, cette essence est indifférente au type de sol (Nègre, 1962). Cependant, elle préfère des sols argileux à argilo-limoneux (khalif, 1959), mais aussi des alluvions de plaines (Seigue, 1985). Elle participe à l'amélioration des propriétés physico-chimiques du sol en produisant des quantités considérables d'humus (Mirzaie-Nodoushan et Arefi, 2001).

2. Echantillonnage *in situ* et conditions écologiques des milieux d'étude

2.1. *Pistacia lentiscus* L.

2.1.1. Algérie

En Algérie, le lentisque est une espèce occupant des milieux très contrastés. L'étude de l'influence des facteurs écologiques, essentiellement l'altitude sur sa composition en terpènes est intéressante à explorer.

Nous avons échantillonné des feuilles de lentisque au mois de septembre 2008 dans trois sites algériens à raison de 5 stations par site choisis le long d'un gradient d'altitude croissante (**Fig. 10**). Le premier site regroupe les stations du littoral algérien de faible altitude (<20m) (Cherchel, Zemouri el Bahri, Tizirt, Azzefoun et Ziama Mansouriah), le second comprend les stations de moyenne altitudes (Thénia, Béni Amrane, Tizi Ouzou, El kseur et Lakhdaria) et enfin nous avons échantillonné dans un dernier site à haute altitude et qui regroupe les stations de Béni Mendes, Tizi Oumalou, Ait Khelifa, Aourir N'Athejelil et Tala Moumene. A noté que dans chaque station, 5 pieds femelles, sains ayant pratiquement le même âge sont choisis.

Des spécimens sont déposés à l'herbier de l'université de Provence (Marseille) et sont référenciés comme suite PL1-MAR-2010, PL2-MAR-2010, PL3-MAR-2010 pour les sites de faible, moyenne et haute altitude, respectivement.

Les données climatiques des stations étudiées d'une période de 10 ans (1997-2006) nous ont été fournies par l'Office Nationale de la Météorologie (O.N.M.) et l'Agence Nationale des Ressources Hydriques (A.N.R.H.) d'Alger. Aussi, nous nous sommes inspirés des travaux de Meddour (2010) pour l'extrapolation des données de certaines stations de hautes altitudes par rapports aux stations de références. Les données écologiques des 15 stations de lentisque étudiées sont rapportées dans le **Tab. 1A**

2.2.2. France

L'échantillonnage du lentisque a porté sur trois sites *in situ* en France : un site (semi-aride) situé à Montespín, un second à Montredon (salin, exposé aux embruns marins) et enfin sur un troisième site (aride) situé à Callelongue (**Fig. 11**). Trois populations sont retenues par site à raison de 12 pieds (6 mâles et 6 femelles) par population pour réduire la variabilité due au sexe (Correia et Diaz Barradas, 2000; Groen *et al.*, 2010). Pour chaque arbre, nous avons procédé à des campagnes de mesures saisonnières durant une année (avant le levé du soleil): en hiver (10-23 Février 2009), printemps (18-22 Avril 2009), été (21 Juin-1 Juillet 2009) et enfin en automne (3 Novembre-9 Décembre 2009) de la fluorescence de la chlorophylle a, du potentiel hydrique des feuilles et de leur teneur en pigments (chlorophylles et caroténoïdes).



Echelle : 1/2000000 (carte d'Algérie)

Fig. 10. Carte de situation des stations de *P. lentiscus* échantillonnées en Algérie : ● stations du littoral, ● stations de moyenne altitude et ● stations d'altitude élevée.

Tab.1. Données écologiques des stations algériennes de *Pistacia lentiscus* (A) et de *P. atlantica* (B).

Sites	Stations	Altitude (m)	Coordonnées géographiques	Habitat	P (mm)	T ⁰ Max (C ⁰)	Durée sécheresse (mois)	Q ₂
<u>A: <i>P. lentiscus</i></u>								
Altitude faible	Cherchel	15	36°36'N/2°11'E	<i>Phillyrea latifolia</i>	502±25.08	31.75±0.42	05.0	73.54
	Azzefoun	14	36°53'N/4°25'E	<i>Phillyrea latifolia</i>	776±50.04	31.5±0.48	04.0	122.1
	Zemmouri Bahri	9	36°48'N/3°35'E	<i>Erica arborea</i>	741±45.34	29.1±0.51	04.0	125.9
	Tigzirt	6	36°53'N/4°08'E	<i>Arbutus unedo</i>	923±67.98	30.3±0.44	03.3	150.7
	Ziama mansouriah	8	36°39'N/5°28'E	<i>Erica arborea</i>	968±60.82	30.8±0.38	04.0	148.2
Altitude moyenne	Thenia	168	36°43'N/3°32'E	<i>Eucalyptus radiata</i>	729±58.43	35.0±0.37	04.3	88.61
	Beni Amrane	121	36°39'N/5°14'E	<i>Erica arborea</i>	730±55.22	35.5±0.38	04.4	87.50
	Tizi Ouzou	182	36°43'N/4°03'E	<i>Pinus halepensis</i>	732±57.42	36.1±0.41	04.3	83.68
	El Kseur	167	36°41'N/4°51'E	<i>Olea europaea</i>	758±59.33	30.8±0.35	04.0	112.1
	Lakhdaria	307	36°34'N/3°35'E	<i>Olea europaea</i>	514±54.14	35.6±0.39	05.3	55.25
Altitude élevée	Ait Khelifa	1042	36°31'N/4°20'E	<i>Olea europaea</i>	1039±56.57	23.2±0.32	03.0	168.9
	Tala Moumene	1008	36°33'N/4°48'E	<i>Olea europaea</i>	1041±67.45	24.5±0.35	03.0	190.2
	Beni Mendes	809	36°30'N/3°59'E	<i>Olea europaea</i>	925±64.54	31.8±0.38	03.3	112.7
	Aourir N'Athjelil	868	36°34'N/4°48'E	<i>Olea europaea</i>	1019±69.33	25.44±0.31	03.3	182.2
	Tizi-Oumalou	942	36°30'N/4°20'E	<i>Olea europaea</i>	939±78.75	30.82±0.36	03.2	116.1
<u>B: <i>P. atlantica</i></u>								
Aridité faible	Médéa	720	36°16'N/3°05'E	<i>Ziziphus lotus</i>	393±39.22	31.00±0.35	04.0	35.5
Aridité moyenne	Laghouat	780	28°00'N/3°00'E	<i>Ziziphus lotus</i>	117±21.22	39.40±0.32	10.0	8.5
Aridité élevée	Béchar	790	31°38'-32°03'N 1°13'-02°13' W	<i>Ziziphus lotus</i>	58±15.21	40.70±0.38	12.0	5.9

P : Moyennes des précipitations annuelles, T⁰ Max : Température maximale du mois le plus chaud, Q₂ : quotient pluviothermique d'Emberger, Durée de sécheresse de Bagouls et Gaussen (1953) P=2T.

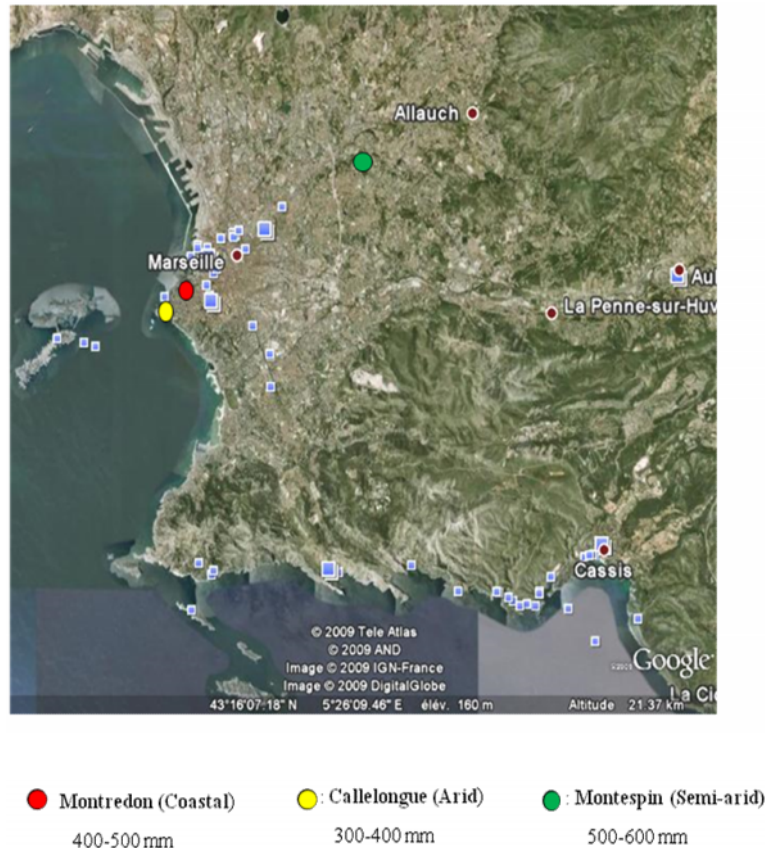


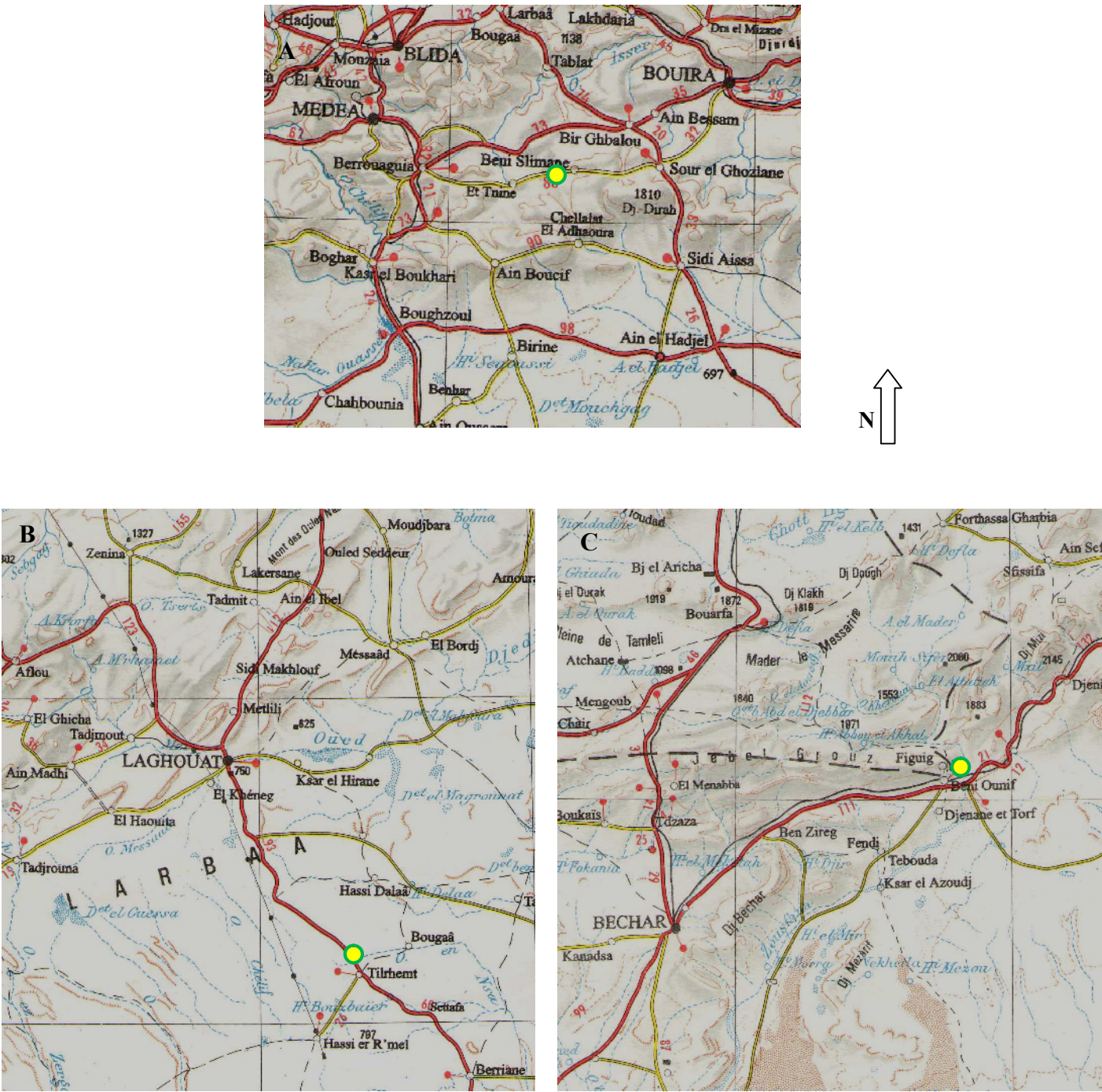
Fig. 11. Sites où sont réalisées les mesures de la fluorescence chlorophyllienne chez des arbustes du lentisque : station de Montespín (semi-aride), station de Montredon (Littoral) et la station de Callelongue (Aride) (site Google Earth).

2.2. *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica*

L'échantillonnage de *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* est réalisé dans trois sites algériens choisis le long d'un gradient d'aridité croissante (Transect Nord-Sud). Il s'agit de Oued Besbes (Wilaya de Médéa), Tilghemt (Wilaya de Laghouat) et dans la station la plus aride de Beni-Ouniff (Wilaya de Béchar). La localisation géographique de ces stations est illustrée sur la **Fig. 12** et leurs données écologiques sont rapportées dans le **Tab. 1B**.

Des spécimens sont déposés à l'herbier de l'université de Provence (Marseille) et sont référenciés comme suite : Mar-PA1-2008; Mar-PA2-2008; Mar-PA3-2008 respectivement pour les sites Médéa, Laghouat et Bechar.

Pour chaque site étudié, 10 pieds femelles, sains et ayant pratiquement le même âge sont choisis. La densité des plantes et les conditions édaphiques (sol calcaire) sont dans l'ensemble identiques dans les différents sites. Des feuilles matures et héliophiles sont prélevées au stade de fructification (au mois de juin 2008) en vue de prendre en compte les décalages phénologiques des plantes dus aux conditions climatiques locales. Ces feuilles feront objet d'études morpho-anatomiques et phytochimiques pour mettre en évidence la variabilité des populations du pistachier de l'Atlas et leurs mécanismes d'adaptation aux conditions d'aridité. Aussi, nous avons procédé à une étude phytodermologique des plantules issues des graines récoltées des stations extrêmes et cultivées dans les mêmes conditions en vue de mettre en évidence l'existence ou non d'une variabilité génétique entre les provenances.



Echelle : 1/2000000 (Carte d'Algérie).

Fig. 12. Cartes de situation des stations de *P. atlantica* (● échantiionnées en Algérie. A: Station de Beni Slimane (Médéa), B: station de Tilghemt (Laghouat) et C: station de Béni Ounif (Béchar).

3. Germination et culture des plantules en conditions de stress hydrique et salin

3.1. Germination

Les graines de *P. atlantica* Desf. sont récoltées au mois d'Août 2008, dans deux sites extrêmes, Médéa et Béchar. Quant à celles du lentisque, elles sont récoltées au mois de décembre 2008 à Montredon, station littorale en France. Ces graines sont séchées à l'air libre, puis conservées au réfrigérateur (-2°C) jusqu'à leur mise à germination. Après une scarification mécanique (essentiellement pour le pistachier de l'Atlas), ces graines sont mises à germer dans des boîtes de Pétri stérilisées à l'alcool (25 jours de germination au mois de mars 2009). Des plantules au stade d'une seule foliole sont transplantées dans des pots contenant du sable (2/3) et de la tourbe (1/3) et laissées accroître dans une chambre de culture de l'université de Provence dont les conditions sont : température 25°C , le photopériodisme fixé à 11/13h et une radiation lumineuse de $500 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 13).

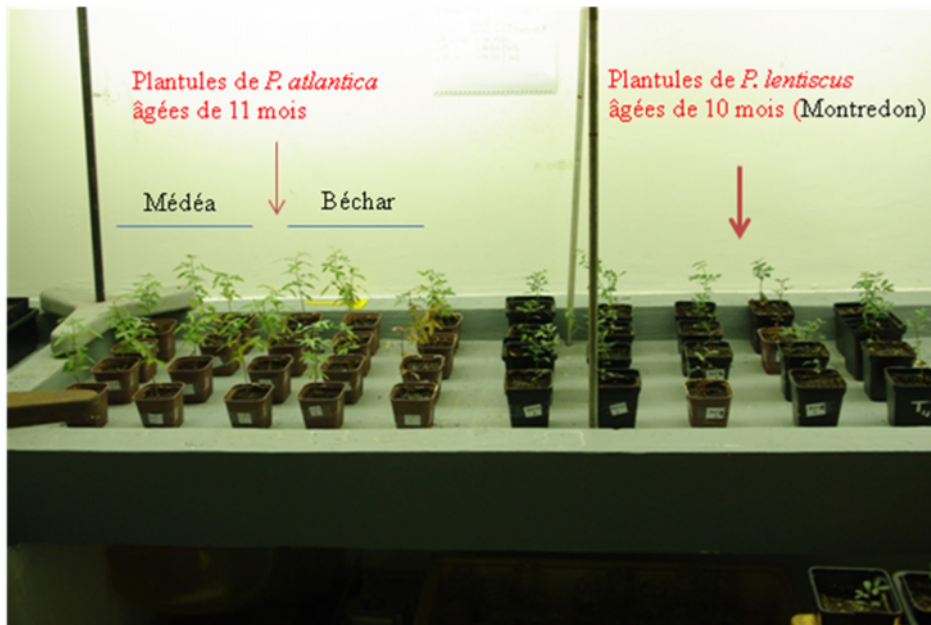


Fig. 13. Plantules de *P. atlantica* (à gauche) et *P. lentiscus* (à droite) dans la salle de culture de l'université de Provence.

3.2. Stress salin: *P. lentiscus*

16 plantules de *P. lentiscus* âgées de 10 mois, ayant la même taille et issues de la germination de graines en provenance de la station littoral de Montredon sont soumises au stress salin. Ainsi, elles sont réparties en quatre lots contenant chacun 4 plantules. Quatre modalités d'arrosage sont appliquées : avec de l'eau du robinet pour le premier lot témoin, NaCl additionné avec du CaCl_2 pour le second lot, NaCl pour le troisième lot et enfin nous avons arrosé les plantules du dernier lot avec du CaCl_2 . 3 jours après, nous avons procédé à l'arrosage des plantules des trois derniers lots avec NaCl pendant 12 jours, à raison d'un arrosage chaque 3 jours. Les concentrations des sels utilisés pour chaque modalité sont : $[\text{NaCl}] = 300 \text{ mM}$ et $[\text{CaCl}_2] = 10 \text{ mM}$. L'arrosage avec du CaCl_2 est réalisé dans le but de prévoir le comportement écophysologique de cette espèce dans un sol calcaire (Fig. 14).

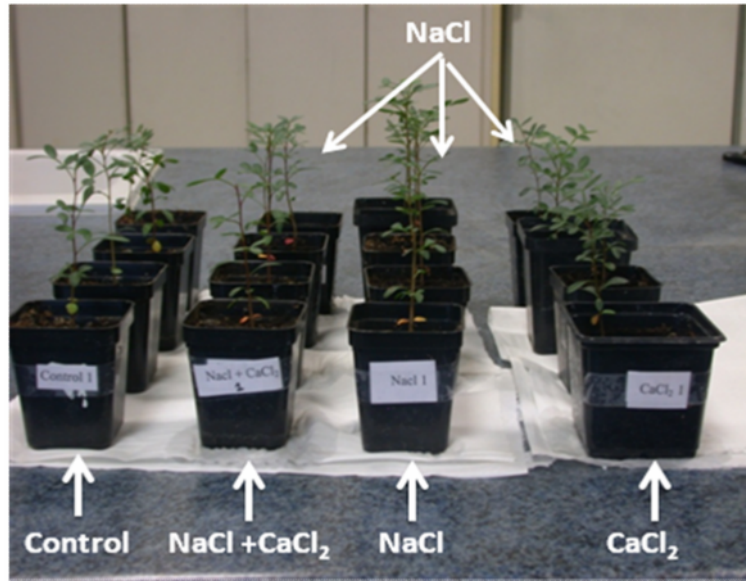


Fig. 14. Plantules du lentisque, âgées de 10 mois et originaire de la station de Montredon réparties en quatre modalités (témoin, NaCl, CaCl_2 et $\text{NaCl}+\text{CaCl}_2$) sont soumises au stress salin par des arrosages répétés avec du NaCl.

3.3. Stress hydrique: *P. atlantica*

16 plantules de *P. atlantica* (8 sont issues de la station de Béchar et 8 autres de la station de Médéa) âgées de 11 mois (issues du même lot que celles utilisées pour les observations au MEB) sont soumises à un stress hydrique par omission de leur irrigation durant une période de 17 jours avant de procéder à un réarrosage avec de l'eau de robinet.

4. Etudes morpho-anatomiques

Les feuilles du pistachier de l'Atlas sont de type C_3 . Elles sont imparipennées et composées de 3-5 paires de folioles.

4.1. Biométrie foliaire

Pour les mesures morphologiques, nous avons échantillonné 30 feuilles par arbre, soit un total de 300 feuilles par site. Une fois récoltées, ces feuilles sont séchées et conservées en herbier avant de procéder à des mesures biométriques à l'aide d'un pied à coulisse : longueur et largeur des feuilles, longueur du pétiole et du rachis ainsi que la longueur et la largeur de la foliole terminale (**Fig. 15**).

4.2. Anatomie de la feuille

Des coupes transversales sont réalisées sur la partie médiane de feuilles fraîches, à raison de trois coupes par feuille puis colorées au carmino-vert d'iode. Montées entre lame et lamelle sous microscope photonique (Motic x 400), nous avons mesuré à l'aide d'un micromètre oculaire les épaisseurs des paramètres anatomiques suivants : épiderme adaxial et abaxial, cuticule adaxiale et abaxiale, parenchyme palissadique et lacunaire ainsi que l'épaisseur totale de la foliole (**Fig. 16**).

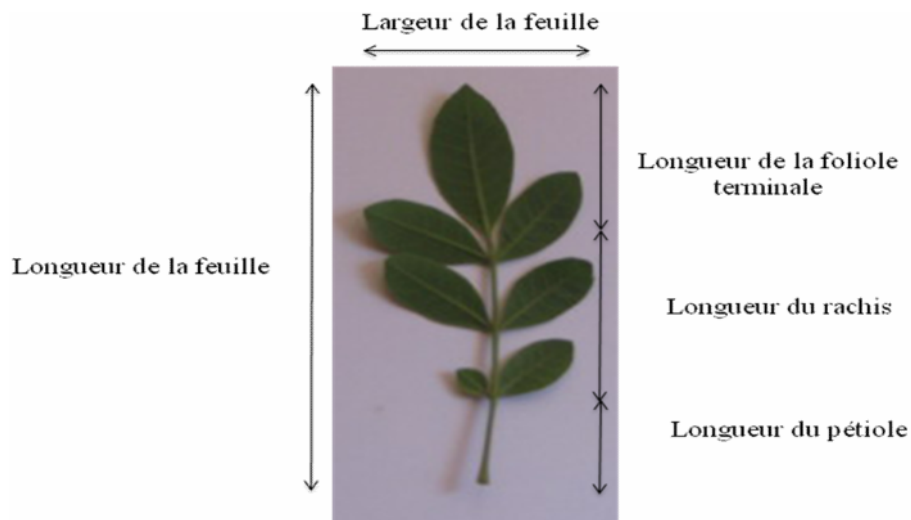


Fig. 15. Biométrie foliaire chez *P. atlantica* Desf.

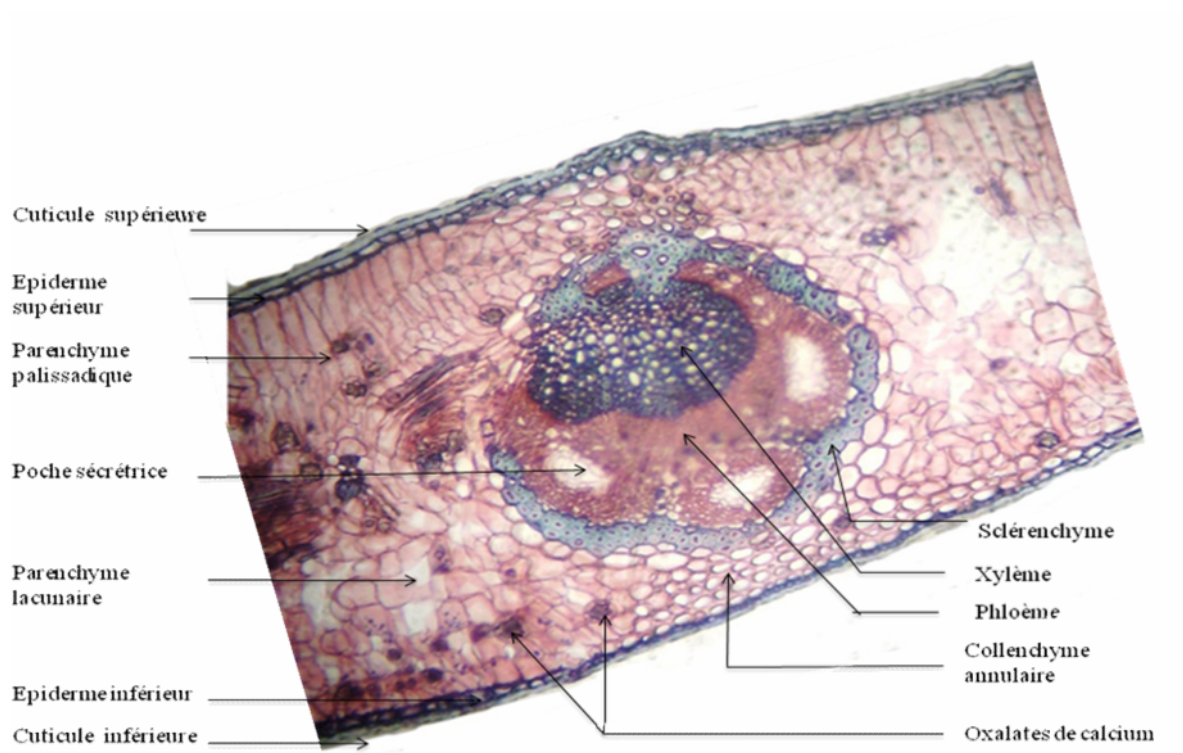


Fig. 16. Paramètres anatomiques mesurés au niveau d’une coupe transversale d’une feuille de *P. atlantica* Desf. observée au microscope photonique « Motic », Gx400, Coloration au carmino-vert (source: Ait Said *et al.*, 2009).

4.3. Microscopie Electronique à Balayage

Pour chacun des deux sites étudiés (Médéa et Béchar), 8 plantules du pistachier de l'Atlas, âgées de 11 mois sont soigneusement choisies. 3 feuilles par plantule sont récoltées puis séchées en herbier. Pour chaque feuille, trois folioles sont enrobées avec de l'or (**Fig. 17**), avant leur observation micromorphologique (phytodermologique) au microscope électronique à balayage : FEI XL30 ESEM (U.S.A) de l'université de Provence de Marseille (**Fig. 18**).



Fig. 17. Folioles du pistachier de l'Atlas enrobées avec de l'or pour les observations au M.E.B.



Fig. 18. Microscope électronique à balayage (M.E.B.) FEI XL30 ESEM (U.S.A.) utilisé pour les différentes observations phytoderologiques des feuilles des plantules du pistachier de l'Atlas.

5. Analyse des terpénoïdes en CG-SM

5.1. Préparation du matériel végétal

Les feuilles des deux espèces étudiées sont récoltées puis séchées à l'ombre et à température ambiante (28°C) pendant 18 jours, jusqu'à l'obtention d'un poids sec constant. 100 g de feuilles par arbre sont ensuite finement broyées puis conservées à l'obscurité jusqu'à leur utilisation.

5.2. Méthode d'extraction

Dans un flacon en verre bien nettoyé à l'alcool ordinaire puis au dichlorométhane, on suspend 2,5 g de poudre de matière végétale sèche, dans 5ml de dichlorométhane (CH_2Cl_2) (ratio 1 : 2 (p/v). 50 μl de Dodécane ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$) de concentration (50 ng/ μl) sont rajoutés comme standard interne pour la quantification des composés relativement au Dodécane.

Les flacons bien fermés et recouverts de papier aluminium sont laissés sous hotte sous agitation magnétique à température ambiante pendant 30 minutes à raison de 600 tr/mn. Une aliquote est prélevée à l'aide d'une seringue, filtrée à l'aide d'un filtre seringue RC (Regenerated cellulose, 0,45 μm , 25 mm, Phenomenex, Le Pecq, France) en la transvasant dans un vial GC-MS puis analysée par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) (Hewlett Packard® GC 6890) couplée à un Spectromètre de Masse (SM) (5973 Network). Le système est équipé d'une colonne capillaire dont les dimensions sont : 30 m de longueur, 0,25 mm de largeur et 0,25 μm de diamètre.

2 μl d'extrait sont injectés à travers l'injecteur automatique (ALS 7683) en mode Splitless à 50 min ml^{-1} après 1 min. La température d'injection est maintenue à 250°C.

L'Hélium est le gaz vecteur utilisé dont le débit est 1ml/min. La température du four initialement fixée à 40°C, puis elle augmente de 4°C min^{-1} jusqu'à atteindre 270°C pendant 5mn. La température de transfert de ligne est maintenue à 280 °C.

Les terpènes sont identifiés par une comparaison de leur indice de rétention (IR) et leurs spectres de masse (SM) avec ceux enregistrés dans la base de données ou bien cités dans la littérature (Adams, 2007).

6. Etudes écophysiologiques

6.1. Mesures de la fluorescence de la chlorophylle *a*

La fluorescence chlorophyllienne provenant essentiellement des photosystèmes PSII permet de quantifier la vitalité d'une plante. Son étude fournit de précieux renseignements sur le fonctionnement photochimique des chloroplastes notamment de la première phase de la photosynthèse (phase lumineuse) à savoir, la capture de l'énergie lumineuse par les antennes collectrices, transfert de l'excitation à travers les pigments et émission des électrons par le PSII (**Fig. 19**).

La fluorescence est en étroite compétition avec la photochimie. En effet, lorsque l'état fonctionnel des membranes photosynthétiques se dégrade sous l'effet de certaines contraintes défavorables de l'environnement (contrainte hydrique, salinité, carence minérale, attaque par un herbicide...etc), la chaîne de transport des électrons est perturbée, de sorte que la production d'agents réducteurs (d'ATP et NADPH), indispensables à la réduction du CO₂ en sucres à l'origine de la plupart des molécules organiques de la plante, diminue. Dans ces conditions, la désactivation des molécules de chlorophylle excitées se fait essentiellement par production de chaleur ou de fluorescence (**Fig. 20**).

Les mesures des paramètres de fluorescence chlorophyllienne sont faites *in situ* sur la partie centrale des feuilles héliophiles du lentisque à l'aide d'un fluorimètre FMS 2 (Hansatech® Fluorescence Monitoring System) (**Fig. 21A**) à raison d'une mesure par feuille et par arbre.

Avant le levée du soleil, les centres réactionnels et la chaîne de transport d'électrons sont totalement disponibles, les chloroplastes ne sont pas énergisés. On installe alors des clips d'adaptation à l'obscurité (**Fig. 21B**) (pinces, dont la partie se trouvant en contact avec la face supérieure de la feuille comporte une fenêtre de lecture pouvant être obstruée au moyen d'une plaque métallique coulissante) sur les folioles de *Pistacia lentiscus*. Après une application d'une lumière ambrée (685nm) pulsée monochromatique (d'intensité constante et faible réglée de telle sorte qu'elle ne produise pas de variation de la photochimie) sur la foliole, nous enregistrons une fluorescence minimale **F₀** qui témoigne d'une réduction (ouverture) de tous les centres réactionnels et d'une oxydation totale des accepteurs primaires d'électrons (QA).

L'application d'un flash de saturation (deux fois l'intensité du soleil d'une durée de 0,5 s), induit l'oxydation (fermeture) de tous les centres réactionnels de PSII qui restent bloqués dans l'état QA⁻ (réduits). La fluorescence passe très rapidement d'un niveau **F₀** vers le niveau maximum de fluorescence **F_m**. Le retour de **F_m** vers **F₀** est relativement rapide (5-10 seconde) et qui correspond pour l'essentiel au transfert de la charge de QA⁻ vers QB dans l'ensemble des centres PSII de l'échantillon.

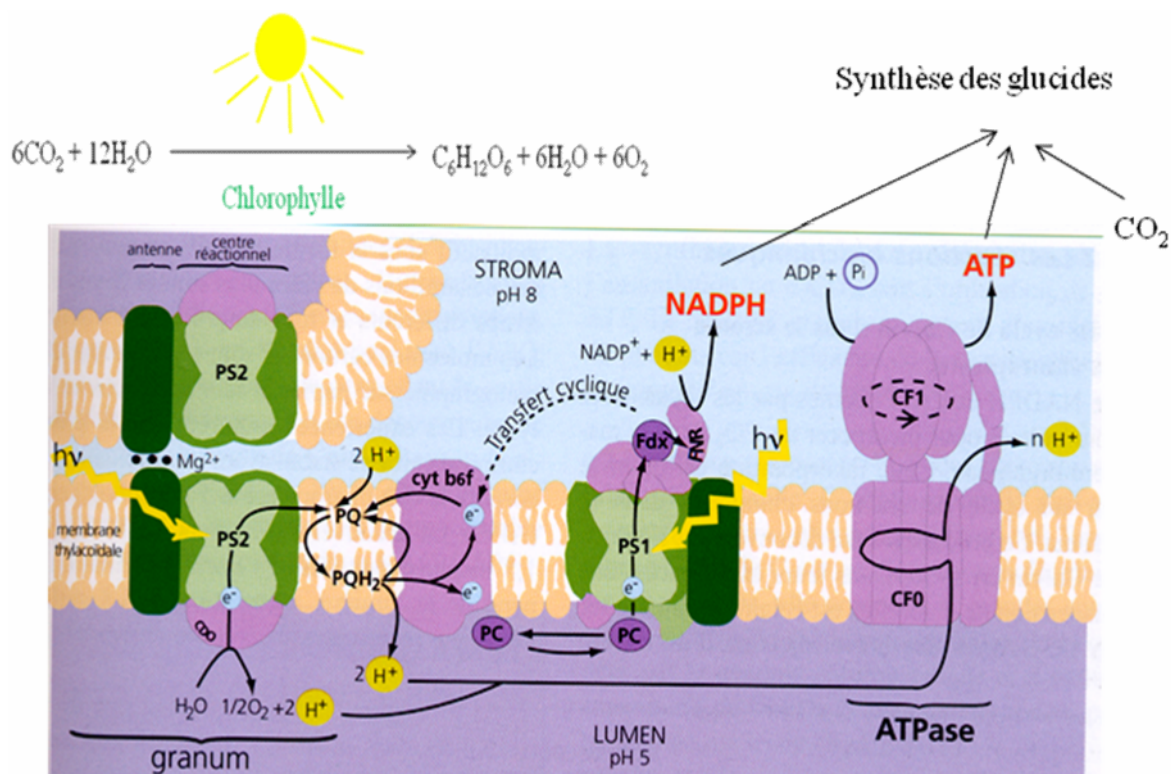


Fig. 19. Schéma simplifié de la photosynthèse.

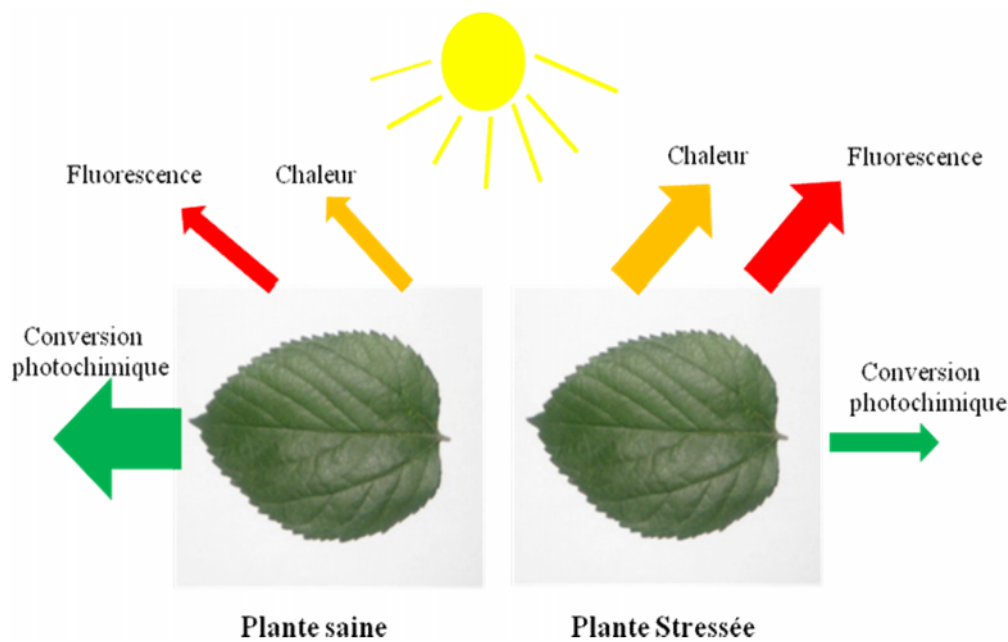


Fig. 20. Différentes voies de désactivation des molécules de chlorophylle excitée : fluorescence, chaleur et photochimie.

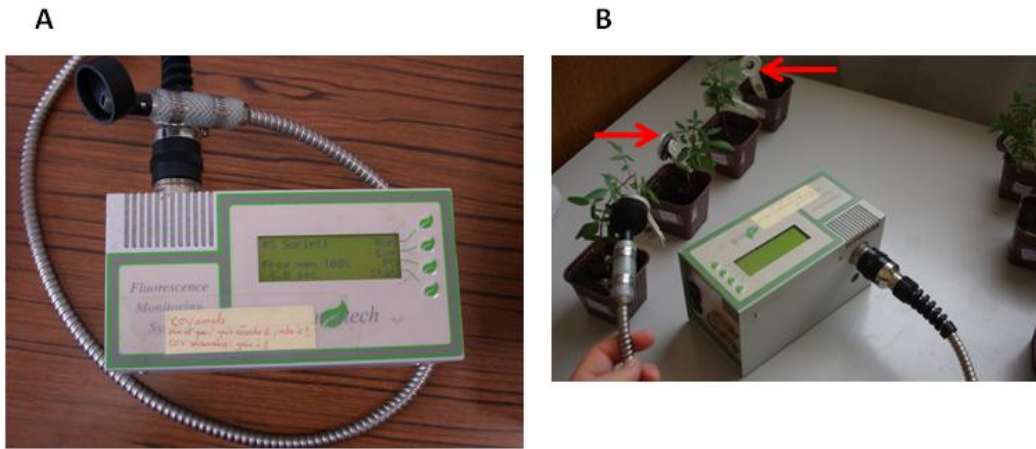


Fig. 21. A. Fluorimètre FMS 2 (Hansatech® Fluorescence Monitoring System) utilisé pour les mesures de la fluorescence de la chlorophylle des feuilles de lentisque, B: Flèche en rouge désigne le clip utilisé pour l'acclimatation des feuilles à l'obscurité.

La différence de la fluorescence ($F_m - F_0$) est appelée fluorescence variable, **Fv**; celle-ci est une mesure de la fraction de l'énergie photochimique absorbée convertible en énergie chimique.

Dans ces conditions d'acclimatation à l'obscurité (**Fig. 22A**), nous pouvons calculer le rendement quantique maximum ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (ou efficacité quantique) qui traduit l'efficacité du PSII pour utiliser la lumière pour la conversion photochimique. Testé sur plusieurs espèces, ce quotient est de l'ordre de 0,832 dans les conditions optimales de croissance (Björkman et Demmig, 1987). La réduction du taux de F_v/F_m témoigne le plus souvent des conditions de stress dans lesquelles vit la plante.

Nous avons écrit un script dans le but de simuler l'exposition de la feuille à différentes radiations lumineuses afin d'appréhender les réponses de leurs appareils photosynthétiques (**Fig. 23**). 5 niveaux de lumière actinique sont choisis correspondants aux variations d'intensités lumineuses avant le levée du soleil jusqu'à midi. 360, 540, 900, 1260 et 1620 $\mu\text{mol Photos/m}^2/\text{s}$ imitent les radiations journalières durant la période hivernale et 360, 540, 900, 1440 et 2160 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ représentent celles relatives aux saisons automnale, printanière et estivale. L'application de cette lumière dite actinique qui se superpose à la lumière ambrée, permet d'enregistrer des paramètres de fluorescences qui diminuent lentement jusqu'à atteindre l'état stationnaire appelé **Fs** (C'est l'effet de **kautsky**). Un flash de saturation est appliqué ce qui permet de fermer à nouveau tous les centres réactionnels (dont une partie est déjà réduite suite à cette lumière actinique), les feuilles émettent une fluorescence maximale dite **Fm'** ($F_m' < F_m$).

Dans ces conditions (**Fig. 22B**), nous pouvons calculer l'efficacité quantique réelle $\Phi_{\text{PSII}} = (F_m' - F_s)/F_m'$ (Genty *et al.*, 1989). Elle exprime la quantité de lumière absorbée par la plante et qui est réellement utilisée dans l'acte photochimique. En temps que tel, il peut être utilisé dans l'estimation de la vitesse de transport des électrons (**ETR**) et ainsi donne une indication sur l'ensemble de la photosynthèse.

$ETR (\mu \text{ mole m}^{-2} \text{ s}^{-1}) = \Phi \text{PSII} \times \text{PAR} \times 0,84 \times 0,5$ avec :

- PAR = Radiation Photosynthétique Actives ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$)
- 0,84 = 84% de la lumière est utilisée pour la photosynthèse (chez les espèces de type C_3).
- 0,5 = distribution équitable d'énergie entre les deux photosystèmes PSI et PSII

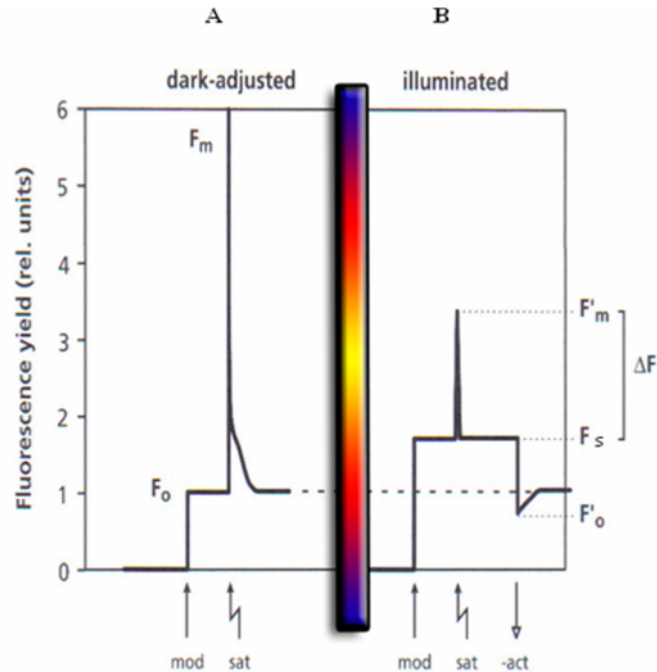


Fig. 22. Modèle d'une courbe de fluorescence de la chlorophylle. **A:** en condition d'obscurité ou **B:** en condition d'illuminosité

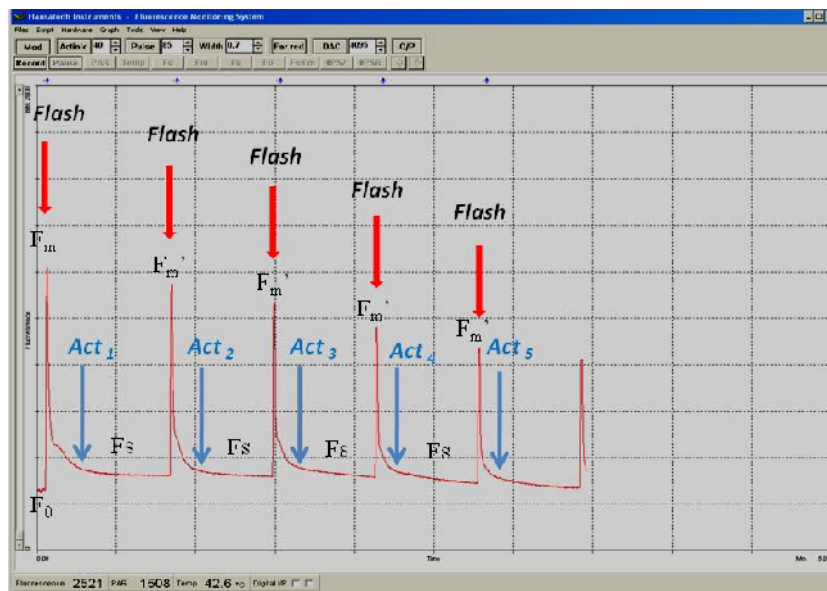


Fig. 23. Cinétique de la fluorescence de la chlorophylle chez les feuilles du lentisque à différents niveaux de PAR.

Dans plusieurs cas, le flux d'électrons à travers le PSII est un indicateur de taux de la photosynthèse. Dans des conditions contrôlées (en absence de stress), le transfert d'électrons à travers le PSII est corrélé positivement au taux de CO₂ fixé par la plante. Cette corrélation peut être cependant rompue dans les conditions de plein champ (Maxwell et Johnson, 2000).

La diminution de la fluorescence en conditions d'éclairement comparée aux conditions d'obscurité ($F_m' < F_m$; $F_0' < F_0$) est due à deux coefficients qui permettent d'atténuer (to quench en anglais) la fluorescence : il s'agit de :

- Le quenching photochimique ($qP = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0)$) : dans ce cas, le maximum d'énergie lumineuse est utilisée par la plante pour la voie photochimique par augmentation des centres réactionnels qui sont à l'état ouverts. Ceci est en étroite relation avec l'augmentation de l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme carboné et l'ouverture des stomates. Lorsque $qP = 1$, tous les centres sont ouverts et pour $qP = 0$ tous les centres sont fermés.

- le quenching non photochimique ($NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$) qui se manifeste par la dissipation de l'excès de l'énergie absorbée sous forme de chaleur (Bilger et Björkman, 1990). Il est à noter que NPQ est modulé par le DpH transthylakoïdal dû à un flux important d'électrons à travers le PSII. Chez la plupart des espèces, cette valeur est comprise entre 0,5 et 3,5 dans le cas des lumières saturantes.

Pour appréhender le bilan annuel de la réponse de l'activité photosynthétique du lentisque face aux facteurs de stress, salin et aride, nous avons utilisé les paramètres de fluorescence suivants : l'efficacité quantique maximale F_v/F_m , l'efficacité quantique réelle Φ_{PSII} , le quenching photochimique qP et le quenching non photochimique NPQ .

6.2. Mesures du potentiel hydrique de la plante

Le potentiel de l'eau dans le xylème est une donnée informant sur le statut hydrique de la plante. Il varie énormément au cours d'une journée puisqu'il est fonction de la transpiration. Cependant, avant l'aube, ce paramètre reste relativement stable et correspond à des valeurs de potentiel de l'eau maximales (les moins négatives) dans la plante.

Les mesures du potentiel hydrique des feuilles de *P. lentiscus* sont réalisées *in situ* avant le lever du soleil à l'aide d'une chambre à pression (PMS Instrument Co. Corvallis, Oregon, USA) (Fig. 24) à raison d'une mesure par arbre, par site et par saison. La valeur du potentiel hydrique est obtenue par une simple lecture de la pression au moment de la sortie des premières bulles d'air dans les parois de la section droite du pétiole des feuilles.

6.3. Dosage des pigments photosynthétiques

La photosynthèse n'est rendue possible grâce aux molécules absorbant la lumière : La chlorophylle a (pigment principal) et la chlorophylle b et les caroténoïdes (pigments accessoires). Ces pigments ont des pics d'absorption de la lumière différents (vers 450 nm et vers 650 nm pour chlorophylles a et b et vers 480-500 pour les caroténoïdes) ce qui permet une optimisation de l'utilisation du spectre solaire par la plante.

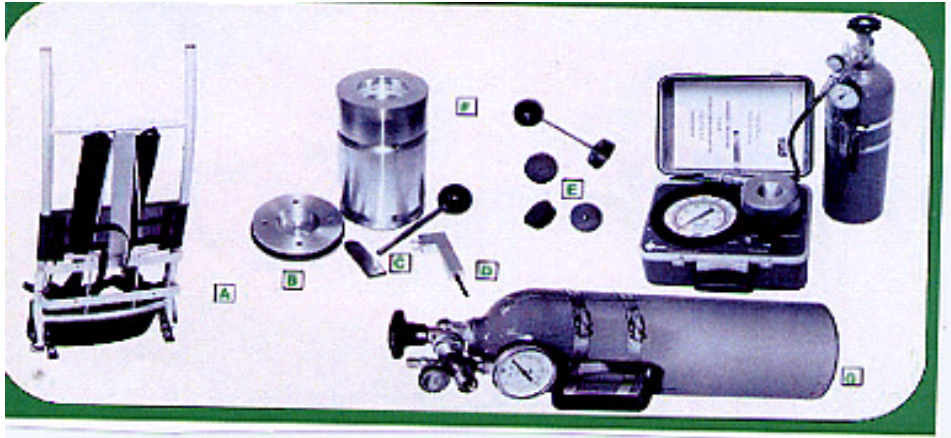


Fig. 24. Appareil de Scholender et ses différents accessoires utilisés pour la mesure du potentiel hydrique d'une feuille.

Des feuilles héliophiles sont récoltées (sur les mêmes arbres utilisés pour les mesures de la fluorescence) avant le levé du soleil, puis transportées au labo pour les dosages. 0,5 g de matière foliaire fraîche est broyée dans 20 ml d'acétone à 80% (C_3H_6O , $M_r=58,08$, pureté 99,5%). Une fois filtrée à l'aide d'un filtre seringue ($0,45\ \mu m$), la solution obtenue est mesurée au spectrophotomètre (série BioMateTM 3) (**Fig. 25A**). Pour cela nous avons utilisé de l'acétone 80% comme blanc pour régler le zéro du spectromètre (**Fig. 25B**).

Le dosage des pigments est obtenu par une simple lecture de l'absorbance de la solution aux longueurs d'onde suivantes : 663, 646 et 470 nm (A663, A646 et A470 respectivement) (**Fig. 25C**). Le calcul de la concentration ($\mu g/g$) des chl a, chl b et les caroténoïdes contenus dans la solution est obtenu par la méthode de Wellburn (1994) soit :

$$\text{Chl a} = (12,21 \times A_{663} - 2,81 \times A_{646})V/W$$

$$\text{Chl b} = (20,13 \times A_{646} - 5,03 \times A_{663})V/W$$

$$\text{Caro} = (1000 \times A_{470} - 3,27 \times \text{Chl a} - 104 \times \text{Chl b})/198)V/W$$

V = volume de la solution (20 ml dans notre cas)

W = poids des feuilles utilisé (0,5 g dans notre cas).

7. Etudes physiologiques : stress hydrique et salin

7.1. Mesures d'échanges gazeux couplées à la fluorescence de la chlorophylle a

La mesure des échanges gazeux, contrairement à la fluorescence chlorophyllienne nous renseigne sur le devenir des électrons qui traversent les membranes thylakoïdiennes et donc de la phase obscure de la photosynthèse. Ces deux méthodes d'analyse qui sont complémentaires, permettent de quantifier la part de la limitation stomatique *versus* non stomatique dans la réduction du CO_2 et donc de la photosynthèse. Aussi, elle permet l'estimation des différents types d'énergie utilisés, aussi bien la photorespiration que la dissipation thermique (Flexas *et al.*, 1999). Le principe de la technique, repose sur la mesure différentielle du CO_2 et de la vapeur d'eau contenus dans un flux d'air avant et après la mise en contact avec une portion de feuille végétale.

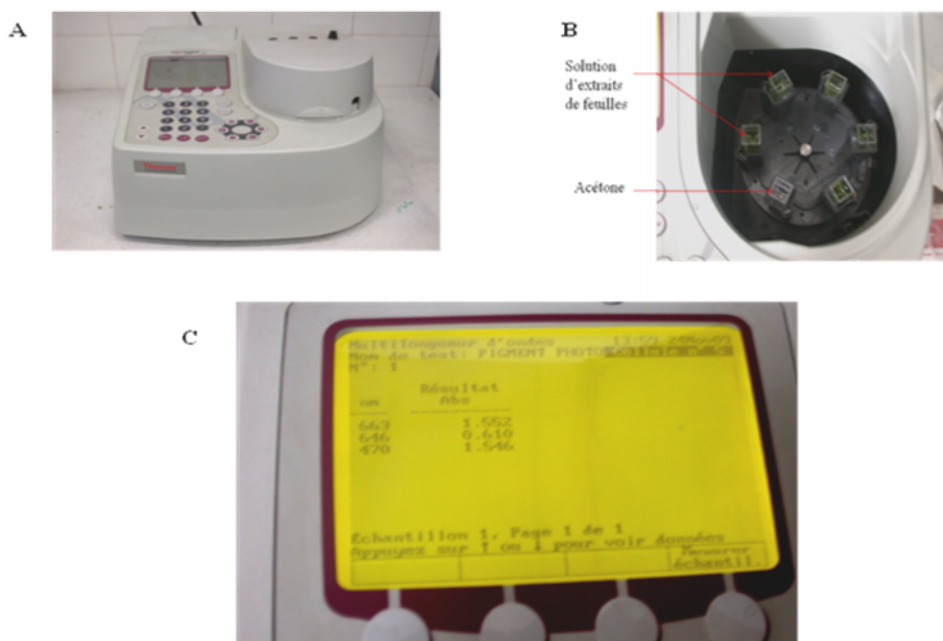


Fig. 25. Dosage de pigments. **A:** Spectrophotomètre série BioMate™ 3, **B:** Etalonnage et **C:** mode de lecture.

Les plantules de *P. lentiscus* et de *P. atlantica* soumises respectivement au stress salin et au stress hydrique ont fait objet de mesures des échanges gazeux et de certains paramètres de fluorescence.

Pour chacune des espèces et plantules étudiées et pour chaque niveau de stress testé, 3 mesures par plantule de la conductance stomatique (**gs**), efficacité réelle de l'utilisation de la lumière (**ΦPSII**), rendement quantique de la réduction du CO₂ (**ΦCO2**) et le pourcentage des centres réactionnels des photosystèmes qui sont à l'état ouvert (**qp**) sont réalisées.

Ces mesures sont réalisées à l'aide d'un Li-COR 6400 XT U.S.A. (**Fig. 26**) équipé d'une chambre de fluorescence. La taille de la chambre standard de mesure et la sensibilité des capteurs imposent de travailler sur des plantes dont les feuilles ont une surface intégrable supérieure à 2 cm². Les capteurs de mesures sont deux IRGA (Infra Red Gas Analyzer) affectés l'un à l'air de référence, l'autre à l'air soumis à l'échantillon. Ces IRGA sont à proximité immédiate avec la chambre de mesure qui se trouvent réunies dans la même pièce. Dans la chambre de mesures, les feuilles sont mises dans des conditions imitant celles du milieu naturel à savoir une concentration stable de CO₂ de l'ordre de 300 μmol/m²/s, une température de 25⁰C et un niveau de PAR de 500 μmol/Photons/m²/s.

Les mesures ne sont réalisées que lorsque la conductance stomatique et l'assimilation du CO₂ sont stables. Il est important de procéder au contrôle de l'étalonnage des IRGA, de l'efficacité des pièges et de l'étanchéité du système avant toute mesure.

Les variables mesurées liées aux teneurs en CO₂ et H₂O, aux températures et aux intensités lumineuses sont enregistrées dans l'appareil qui est piloté par une interface logicielle

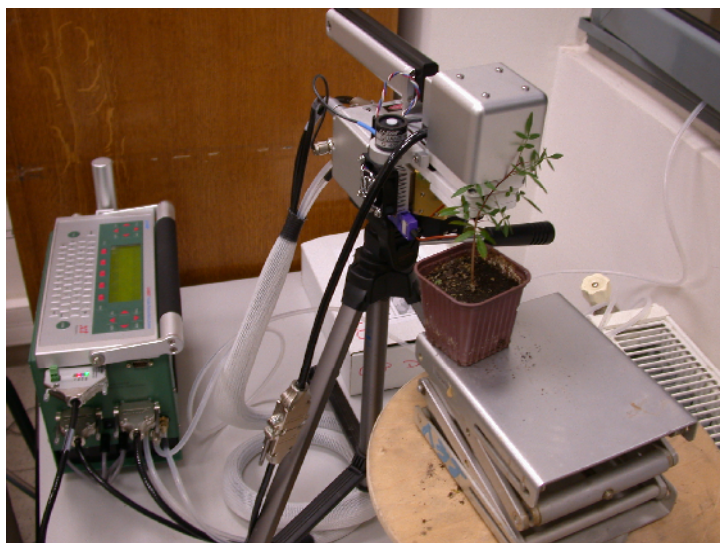


Fig. 26. Appareil Li-Cor 6400 (U.S.A.) utilisé pour les mesures des échanges gazeux chez les plantules du lentisque et celles du pistachier de l'Atlas.

7.2. *Imagerie fonctionnelle : Microscopie Confocale à Balayage Laser (LS-CM)*

Le lentisque est une espèce adaptée aux conditions de salinité malgré l'absence d'organes d'excrétion du sel. Le sodium (Na^+) est l'un des éléments chimiques le plus néfaste pour la cellule surtout lorsqu'il est concentré dans le cytoplasme. Nous nous sommes intéressés à la recherche de la localisation (compartimentation) de cet ion dans les tissus foliaires. Pour cela, des plantules âgées de 10 mois issues du même lot que celui utilisé pour les échanges gazeux sont arrosées avec une solution saline à 600 mM NaCl (équivalent à l'eau de mer) pendant 10 jours à raison d'un seul arrosage chaque 2 jours. A la fin du stress salin, 3 coupes très fines de feuilles par plantule sont réalisées puis incubées pendant 10 heures, à l'abri de la lumière dans une solution contenant:

- 132 μl de l'ionophore SBFI (Tetraammonium salt) dont la solution stock est 1mg dans 1ml de DMSO.
- 16 μl de Pluronic F-127 (solution stock : 1g pluronic dans 50 ml DMSO).
- 1852 μl tampon HEPES (DMSO) (pH= 7.5).

Ces coupes sont abondamment rincées, puis montées dans une goutte de DMSO, entre lame et lamelle et observées au microscope confocal (LSM 710, ZEISS, Objectif inversé, grossissements oculaires = 10x23, grossissements objectifs = 10x, 20x, 40x, 63x et 100x) de l'université de Provence (**Fig. 27**). La raie d'excitation laser est de 480 nm et le signal d'émission de la fluorescence de l'ionophore est de 515 nm. Les images en mode LSM sont analysées par déconvolution des différents spectres d'émission : autofluorescence et fluorescence spécifique de l'ionophore.



Fig. 27. Microscope Confocal de l'université de Provence (LSM 710, ZEISS) utilisé pour l'imagerie fonctionnelle.

8. Traitement statistique des données

L'analyse de la variance des données morpho-anatomiques, phytochimiques et celles des échanges gazeux est faite par une ANOVA à un ou à deux facteurs selon le cas. Le test de Newman-Keuls (HSD) est utilisé pour tester la significativité de la différence entre les moyennes en fonction du ou des facteur(s) étudié(s).

Les données obtenues à l'aube ont été analysées par une ANOVA. Le test de Turkey HSD (Honestly Significant Differences) a été utilisé pour tester la significativité des différences du ratio de fluorescence F_v/F_m , les teneurs en pigments et le potentiel hydrique entre le sexe, populations, sites et les saisons. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide d'un logiciel statistique R (R development Core Team, 2009) en utilisant le package "agricolae" (De Mendiburu, 2010).

Les données des cinétiques de la lumière ont été ajustées par des fonctions exponentielles et racine carrée. Avant les analyses statistiques, les fonctions exponentielles du rendement quantique actuel et de coefficient du quenching photochimique ont été alors ajustées par des régressions linéaires en utilisant des données transformées sous forme logarithmiques (en Log).

Dans le cas du coefficient de quenching non photochimique, les données sont transformées en carrée. Ainsi, l'analyse de la covariance (ANCOVA), en utilisant les intensités lumineuses comme covariable a été utilisée, pour comparer, les allures entre le sexe et les sites pour chaque saison et les significativités des différences du rendement quantique, quenching photochimique et non photochimique ont été déterminées à l'aide d'un test de Tukey. Les ajustements des courbes et les analyses statistiques ont été réalisés en utilisant le logiciel Statgraphics Centurion XV.

L'Analyse en Composantes Principales (A.C.P.) est réalisée en vue de mettre en évidence la distribution spatiale des individus en fonction de leurs affinités avec les composés phytochimiques mais aussi de dégager les marqueurs les plus corrélés aux facteurs étudiés. Cette analyse est réalisée à l'aide d'un logiciel R (R development Core Team, 2009) en utilisant le package "ade4" (Dray *et al.*, 2007).

Chapitre 3

Résultats et Discussions

1. Inter-population variability of leaf morpho-anatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria.

Cet article est publié dans la revue Flora

Authors: Samir Ait Said ^{a,b}, Catherine Fernandez ^b, Stéphane Greff ^b, Arezki Derridj ^a, Thierry Gauquelin ^b, Jean-Philippe Mevy ^{b,*}

^a Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud MAMMERI BP 17 Tizi-Ouzou, Algeria

^b Institut Méditerranéen d'Ecologie et Paléoécologie (IMEP), UMR CNRS 6116, Equipe Diversité Fonctionnelle des Communautés Végétales, Aix-Marseille Université, Centre Saint Charles. 3, place Victor Hugo. 13331, Marseille Cedex 3, France

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: jean-philippe.mevy@univ-provence.fr; Tel.: +33-04-13-55-07-66; Fax: +33-04-13-55-11-51.

Received 22 April 2010, Accepted 11 August 2010, Available online 08 January 2011.

Résumé - Trois populations algériennes de *P. atlantica* (sujets femelles) ont été étudiées dans le but de caractériser leur variabilité infraspécifique par le biais des paramètres morpho-anatomique et terpénique. Ces populations sont échantillonnées le long d'un gradient d'aridité croissante allant des régions subhumides jusqu'au Sahara central Ouest.

Comme mis en évidence par la microscopie électronique, les poils en touffes ont été trouvés uniquement sur les feuilles des plantules du site de faible aridité en tant que trait populationnel spécifique, préservé également après germination des semences. Soumis aux mêmes conditions de culture, les plantules de la station la plus aride montrent une densité moyenne de poils glanduleux trois fois plus élevée comparée à la station la moins aride. L'augmentation de l'aridité entraîne une réduction de la taille des feuilles avec une augmentation de leur épaisseur. L'épaisseur du parenchyme palissadique qui augmente aussi avec l'aridité est le meilleur paramètre discriminant les trois populations de *P. atlantica*.

L'analyse terpénique faite au CG-MS révèle la présence de 65 composés. Les composés majoritaires identifiés dans les feuilles récoltées dans le site le moins aride sont : spathulenol (23 µg g⁻¹ MS), α-pinene (10 µg g⁻¹ MS), verbenone (7 µg g⁻¹ MS) et le β-pinene (6 µg g⁻¹ MS); spathulenol (73 µg g⁻¹ MS), α-pinene (25 µg g⁻¹ MS), β-pinene (18 µg g⁻¹ MS) et γ-amorphe (16 µg g⁻¹ MS) chez celles récoltées dans le site de moyenne aridité et enfin le spathulenol (114 µg g⁻¹ MS), α-pinene (49 µg g⁻¹ MS), germacrene D (29 µg g⁻¹ MS) et le camphene (23 µg g⁻¹ MS) sont majoritaires dans les feuilles du site le plus aride. Les contenus en terpènes augmentent avec le degré d'aridité: les valeurs moyennes les plus élevées de monoterpènes (136 µg g⁻¹ MS), sesquiterpènes (290 µg g⁻¹ MS) et le total des terpènes (427 µg g⁻¹ MS) sont caractéristiques du site le plus aride et sont, respectivement, 3-, 5- et 4-fois plus élevées comparé au site le moins aride. Le spathulenol et l'α-pinene peuvent être considérés des marqueurs chimiques d'aridité. L'aridité met aussi en évidence d'autres marqueurs tels δ-cadinene et β-copaene présents en faibles concentrations. Les rôles

fonctionnels des terpènes présents dans les feuilles de *P. atlantica* et leur biosynthèse sont discutés en mettant l'accent sur les mécanismes de résistance des plantes à la sécheresse.

Mots-clés: *Pistacia atlantica*, monoterpenes, sesquiterpenes, anatomie, morphologie, aridité.

Abstract - Three Algerian populations of female *Pistacia atlantica* shrubs were investigated in order to check whether their terpenoid contents and morphoanatomical parameters may characterize the infraspecific variability. The populations were sampled along a gradient of increasing aridity from the Atlas mountains into the northwestern Central Sahara.

As evidenced by Scanning Electron Microscopy, tufted hairs could be found only on seedling leaves from the low aridity site as a population-specific trait preserved also in culture. Under common garden cultivation seedlings of the high aridity site showed a three times higher density of glandular trichomes compared to the low aridity site. Increased aridity resulted also in reduction of leaf sizes while their thickness increased. Palisade parenchyma thickness also increases with aridity, being the best variable that discriminates the three populations of *P. atlantica*.

Analysis of terpenoids from the leaves carried out by GC-MS reveals the presence of 65 compounds. The major compounds identified were spathulenol ($23 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$), α -pinene ($10 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$), verbenone ($7 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$) and β -pinene ($6 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$) in leaves from the low aridity site; spathulenol ($73 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$), α -pinene ($25 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$), β -pinene ($18 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$) and γ -amorphene ($16 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$) in those from medium aridity and spathulenol ($114 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$), α -pinene ($49 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$), germacrene D ($29 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$) and camphene ($23 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$) in leaves from the high aridity site. Terpene concentrations increased with the degree of aridity: the highest mean concentration of monoterpenes ($136 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$), sesquiterpenes ($290 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$) and total terpenes ($427 \mu\text{g g}^{-1} \text{dw}$) were observed in the highest arid site and are, respectively, 3-, 5- and 4-fold higher compared to the lower arid site. Spathulenol and α -pinene can be taken chemical markers of aridity. Drought discriminating compounds in low, but detectable concentrations are δ -cadinene and β -copaene. The functional roles of the terpenoids found in *P. atlantica* leaves and principles of their biosynthesis are discussed with emphasis on the mechanisms of plant resistance to drought conditions.

Keywords: *Pistacia atlantica*, monoterpenes, sesquiterpenes, anatomy, morphology, aridity.

1.1. Introduction

Plants respond to environmental variations, particularly to water availability through morphological, anatomical and biochemical adjustments that help them cope with such variations (Lukovic *et al.*, 2009). Plants are adapted to drought stress by developing xeromorphic characters based mainly on reduction of leaf size (Trubat *et al.*, 2006) and increase in thickness of cell walls, a more dense vascular system, greater density of stomata and an increased development of palisade tissue at the expense of the spongy tissue (Bussotti *et al.*, 2002; Bacelar *et al.*, 2006; Syros *et al.*, 2006).

Terpenes are one of the most diverse family of chemical compounds found in plant kingdom and they exhibit several roles in plant defense and communication (Kirby and Keasling, 2009). In response to drought conditions, significant changes of terpene emissions were shown in many Mediterranean species (Ormeño *et al.*, 2007a; Lavoit *et al.*, 2009). Similar

results were reported regarding the occurrence of terpenic components from *Erica multiflora* and *Globularia alypum* (Llusià *et al.*, 2009). It has been shown also that monoterpenes and sesquiterpenes have a role in protecting plants from thermal damage (Peñuelas and Llusià, 2002; Loreto *et al.*, 2004; Llusià *et al.*, 2005; Peñuelas *et al.*, 2005). Terpenes are recognized as being relatively stable and also as precursors of numerous potential physiological components including growth regulators (Byrd *et al.*, 1999). Another property of these compounds is their great variability in time and depending on the geographic distribution of species as shown by many studies in literature Lang, 1994; Staudt *et al.*, 2000; Hillig, 2004; Smelcerovic *et al.*, 2007). As a result, many studies relate terpenic constituents with plant systematic and population issues (Adams, 1999; Naydenov *et al.*, 2006).

The genus *Pistacia* (Anacardiaceae) consists of at least eleven dioecious species (Zohary, 1952; Kokwaro and Gillett, 1980) that all intensely produce terpenes. There are three wild *Pistacia* species in Algeria: *P. atlantica* Desf. ssp. *atlantica* which exhibits high morphological variability (Belhadj *et al.*, 2008), *P. lentiscus* L. and less frequently *P. terebinthus* L. *Pistacia atlantica* Desf. is considered to be an Irano-Turanian species which is distributed from south-west Asia to north-west Africa (Zohary, 1952). In Algeria, it occurs in the wild from sub-humid environments to extreme Sahara sites (Monjauze, 1967; Quézel and Médail, 2003; Benhassaini *et al.*, 2007). As a thermophilous xerophyte *P. atlantica* grows in dry stony or rocky hill sides, edges of field, roadsides, near the base of dry stone walls and other similar habitats (Tzakou *et al.*, 2007). The species grows well on clay or silty soils, although it can thrive also on calcareous rocks where roots develop inside cracks. Hence, *P. atlantica* has a wide ecological plasticity as also shown by Belhadj *et al.* (2007) through leaf epidermis analysis. For all these reasons, *P. atlantica* is used in re-planting projects in Algeria but only few studies are carried out on the infraspecific variability of this plant.

Regarding the phytochemistry of *P. atlantica*, essential oils from samples harvested in Greece (Tzakou *et al.*, 2007) and Morocco (Barrero *et al.*, 2005) were described. Recently also a study was published describing essential oils and their biological properties from *P. atlantica* harvested in Algeria (Gourine *et al.*, 2009). However, to the best of our knowledge, there is no detailed study on the relationship between the phytochemistry of *P. atlantica* and its ecological conditions of growth.

The aim of this work is to investigate the intraspecific diversity of three populations of *P. atlantica* growing wild in arid zones of Algeria through terpenoid analysis and leaf morphoanatomical traits. We also examined the possible links that may exist between plant chemical composition and aridity conditions of these three locations.

1.2. Material and methods

1.2.1. Sampling sites

Pistacia atlantica Desf. ssp. *atlantica* was harvested in June 2008 from three Algerian sites chosen along a Northeast-Southwest transect of increasing aridity: Oued-Besbes (Medea)-Low aridity, Tilghemt (Laghouat)-Medium aridity and Beni-Ouniff (Bechar)-High aridity (Fig. 28).

Specimens were deposited at the herbarium of the University of Provence Marseille and referred as Mar-PA1-2008; Mar-PA2-2008; Mar-PA3-2008 for the locations of Medea,

Laghouat and Bechar, respectively. Ecological factors of samplings sites are described in **Tab. 2**.

For all the sites, sampling was carried out during fructification stage in order to take into account the phenological shift due to local climatic conditions. Ten healthy female individuals with the same age were chosen per site. Plants density and soil conditions were similar for the different sites.

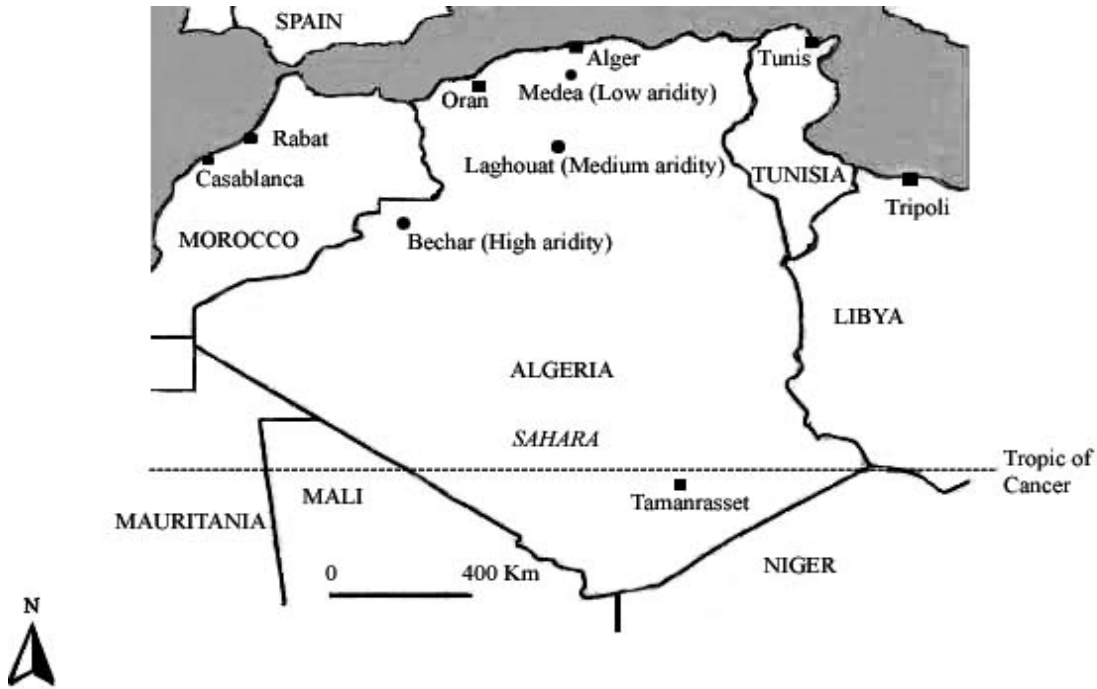


Fig. 29: Geographical location of the investigated *P. atlantica* populations. Sites ●

1.2.2. Leaf morphology and anatomy

From each of the three locations, ten female trees were selected and thirty leaves fully sun exposed were harvested per tree. Once harvested, these leaves were carefully dried and kept in herbarium prior to biometric measurements: leaf length and width, petiole length, rachis length and the terminal leaflet length and width.

For anatomical parameters, cross sections were prepared across the middle part of three fresh leaflets per leaf, stained with carmino-green, and thickness measured using light microscopy of abaxial and adaxial epidermis, cuticle, palisade and spongy parenchyma and total leaflet.

Tab. 1B. Ecological factors of the *Pistacia atlantica* collection sites, selected to define the aridity gradient.

Site	Mean annual precipitation (mm)	Maximal temperature M (°C) of the driest month	Drought duration in months (Bagnouls and Gaussen, 1953)	Emberger Q ₂ *	Latitude	Elevation (m)
Medea Low aridity	393.10	31.00	4	35.5	36°11'-36°22' North 3°00'-3°10' East	720
Laghouat Medium aridity	116.60	39.40	10	8.5	28°00' North 3°00' East	780
Bechar High aridity	57.70	40.70	12	5.9	31°38'-32°03' North 1°13'-2°13' West	790

*Emberger's pluviothermic quotient

1.2.3. Scanning Electron Microscopy (SEM) of seedling leaves

Seeds were collected in August 2008 at Medea and Bechar sites. After germination the seedlings were transplanted in pots filled with peat and sand, then kept in a growth chamber at constant temperature of 25°C. The photoperiod was set at 11/13h and the light irradiance was 500 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. After 11 months of culture eight plants from each location were randomly selected, then three leaves per plant were harvested and carefully dried prior to SEM observations. Micromorphological observations were carried out on three leaflet samples (adaxial and abaxial surfaces) per leaf. These were gold coated before scanning through an electronic microscope: FEI XL30 ESEM (U.S.A).

1.2.4. Terpenoids extraction

Mature and sun exposed leaves were harvested in the field, dried in dark at ambient air temperature conditions until constant weight, then, 100 g per tree were grounded and stored until use. Shade-dried method has no significant effect on the qualitative composition of volatile oils compared to fresh, sun-drying and oven-drying at 40 or 45°C (Omidbaigi *et al.*, 2004; Sefidkon *et al.*, 2006; Ashafa *et al.*, 2008). The extraction method used consisted of suspending leaf dry matter in dichloromethane according to a ratio of 1:2 w/v, for 30 min, under constant shaking at room temperature. 50 μl of dodecane (5 mg ml^{-1}) were added as internal standard for quantification.

1.2.5. Quantitative and qualitative analysis of terpenoids

Extracts were filtered on RC syringe filter (regenerated Cellulose, 0.45 μm , 25 mm; Phenomenex, Le Pecq, France) then analyzed with a gas chromatograph Hewlett Packard® GC 6890 coupled to a mass selective detector 5973 Network. The system was fitted with an HP-5MS capillary column 30 m, 0.25 mm, 0.25 μm . 2 μl of extracts was injected through an

automatic injector ALS 7683 in splitless mode. Purge was set at 50 min ml⁻¹ after 1 min. Injection temperature was maintained at 250°C. Helium was used as carrier gas. A constant flow rate of 1 ml min⁻¹ was set throughout the run. The oven temperature initially set at 40°C was increased to 270°C at a rate of 4°C min⁻¹ and remained constant for 5 min. The MSD transfer line heater was maintained at 280°C.

Terpenes were identified by comparison of their arithmetic index (AI) and mass spectra with those obtained from authentic samples and literature (Adams, 2007).

1.2.6. *Statistic analysis*

The data were analyzed by a one-way ANOVA model. Newman-Keuls test was used to test for significant differences in monoterpenes, sesquiterpenes, total terpenes concentrations and morphoanatomical measurements between the three populations. In order to evaluate the information contained in the collected chemical data, Principal Component Analysis was carried out. The statistical analyses were performed using R statistical software and packages "ade4".

1.3. Results

1.3.1. *Morphoanatomical measurements*

Among the biometric parameters studied it appears that leaf length and width as well as terminal leaflet length and width highly statistically discriminate the three populations of *P. atlantica* (**Tab. 2**). The population from the most arid site shows the lowest leaf and terminal leaflet sizes. However the number of leaflets pairs increases with aridity. Regarding the anatomical data, the thickness of palisade parenchyma is the major discriminating variable and it increases with aridity (**Tab. 3**).

1.3.2. *SEM observations*

The epidermis of seedling leaves has markedly sinuous walls in both Medea and Bechar populations. Abaxial and adaxial leaf surfaces of each population are covered with two types of trichomes, elongated hairs and glandular trichomes. The former are essentially located at midrib of the adaxial leaf surface (**Fig. 29, A**) and at the rachis forming parallel rows (**Fig. 29, B**). The latter (**Fig. 29, C**) are distributed over the entire leaf surface (essentially at the abaxial surface) with high density (18.31 ± 0.29 mm⁻²) in plants that seeds were sampled from the population of the most arid site (Bechar). Trichome density of the plants raised from seeds sampled from the population that grows under less arid conditions (Medea) was 6.15 ± 0.21 mm⁻² when both seedling lots were cultivated in the same environment (**Fig. 29, D-E**). The Medea population could further be discriminated by the presence of tufted hairs which never were observed in the Bechar population on *P. atlantica*, neither in seedlings nor in adult plants (**Fig. 29, F**).

Tab. 2. Morphological data (cm) of female *P. atlantica* ssp. *atlantica* leaves from low, medium and high aridity sites in Algeria. Mean of 30 measurements per tree with standard errors.

Leaf biometry (cm)	Low aridity site (Medea)	Medium aridity site (Laghouat)	High aridity site (Bechar)	<i>p</i>
Leaf length	9.63 ± 0.19 a	9.17 ± 0.17 b	8.92 ± 0.18 c	<0.001
Leaf width	7.61 ± 0.16 a	7.16 ± 0.14 b	6.65 ± 0.17 c	<0.001
Rachis length	4.09 ± 0.10 a	3.78 ± 0.07 b	3.72 ± 0.08 b	<0.001
Petiole length	2.13 ± 0.04	2.11 ± 0.05	2.05 ± 0.06	>0.05
Terminal leaflet length	3.41 ± 0.03 a	3.29 ± 0.03 b	3.14 ± 0.02 c	<0.001
Terminal leaflet width	1.58 ± 0.03 a	1.49 ± 0.01 b	1.45 ± 0.02 c	<0.001
Number of leaflet pairs	3.09 ± 0.07 b	3.12 ± 0.08 b	3.26 ± 0.10 a	<0.05

Tab. 3. Anatomical data (μm) of female *P. atlantica* ssp. *atlantica* leaves from low, medium and high aridity sites in Algeria. Mean of 30 measurements per plant (3 replicates per leaf) with standard errors.

Leaf anatomy (μm)	Low aridity site (Medea)	Medium aridity site (Laghouat)	High aridity site (Bechar)	<i>P</i>
Abaxial cuticle	4.98 ± 0.08 b	5.99 ± 0.12 a	6.08 ± 0.13 a	<0.001
Adaxial cuticle	4.32 ± 0.06 b	4.88 ± 0.16 a	4.91 ± 0.12 a	<0.01
Abaxial epidermis	12.70 ± 0.18 b	12.69 ± 0.18 b	14.07 ± 0.20 a	<0.001
Adaxial epidermis	13.26 ± 0.16 b	13.30 ± 0.14 b	13.45 ± 0.18 a	<0.05
Palisade parenchyma	64.66 ± 1.5 c	72.77 ± 1.38 b	95.76 ± 1.42 a	<0.001
Spongy parenchyma	98.67 ± 1.64	102.45 ± 1.81	106.34 ± 1.86	>0.05
Leaf thickness	198.53 ± 2.78 c	212.08 ± 2.97 b	240.61 ± 3.51 a	<0.001

1.3.3. Terpenoid analysis

P. atlantica leaves contain forty nine compounds identified (**Tab. 4**). Among these, twenty two were monoterpenes (8 hydrocarbons and 14 oxygenated) and twenty five were sesquiterpenes (16 hydrocarbons and 9 oxygenated). In the high aridity site, the major compounds identified were spathulenol (114 μg g⁻¹ dw), α-pinene (49 μg g⁻¹ dw), germacrene D (29 μg g⁻¹ dw) and camphene (23 μg g⁻¹ dw) while from the low aridity site spathulenol (23 μg g⁻¹ dw), α-pinene (10 μg g⁻¹ dw), verbenone (7 μg g⁻¹ dw) and β-pinene (6 μg g⁻¹ dw) were the dominant constituents. For the medium aridity site situated between these two extreme conditions of aridity, spathulenol (73 μg g⁻¹ dw), α-pinene (25 μg g⁻¹ dw), β-pinene (18 μg g⁻¹ dw) and γ-amorphene (16 μg g⁻¹ dw) were the main terpenes found.

The quantitative analysis showed significant differences in both monoterpene, sesquiterpene and total terpene concentrations of the *P. atlantica* leaves according to the sites investigated (**Fig. 30**). Three distinct groups were obtained (Newman-Keuls test, 5% level). Terpene concentrations increase with the degree of aridity. The highest mean concentrations of monoterpenes (136 μg g⁻¹ dw), sesquiterpenes (290 μg g⁻¹ dw) and total terpenes (427 μg g⁻¹ dw) were observed in the high aridity site, whereas these figures were: 57 μg g⁻¹ dw, 57 μg g⁻¹ dw and 113 μg g⁻¹ dw, respectively, at the low aridity site.

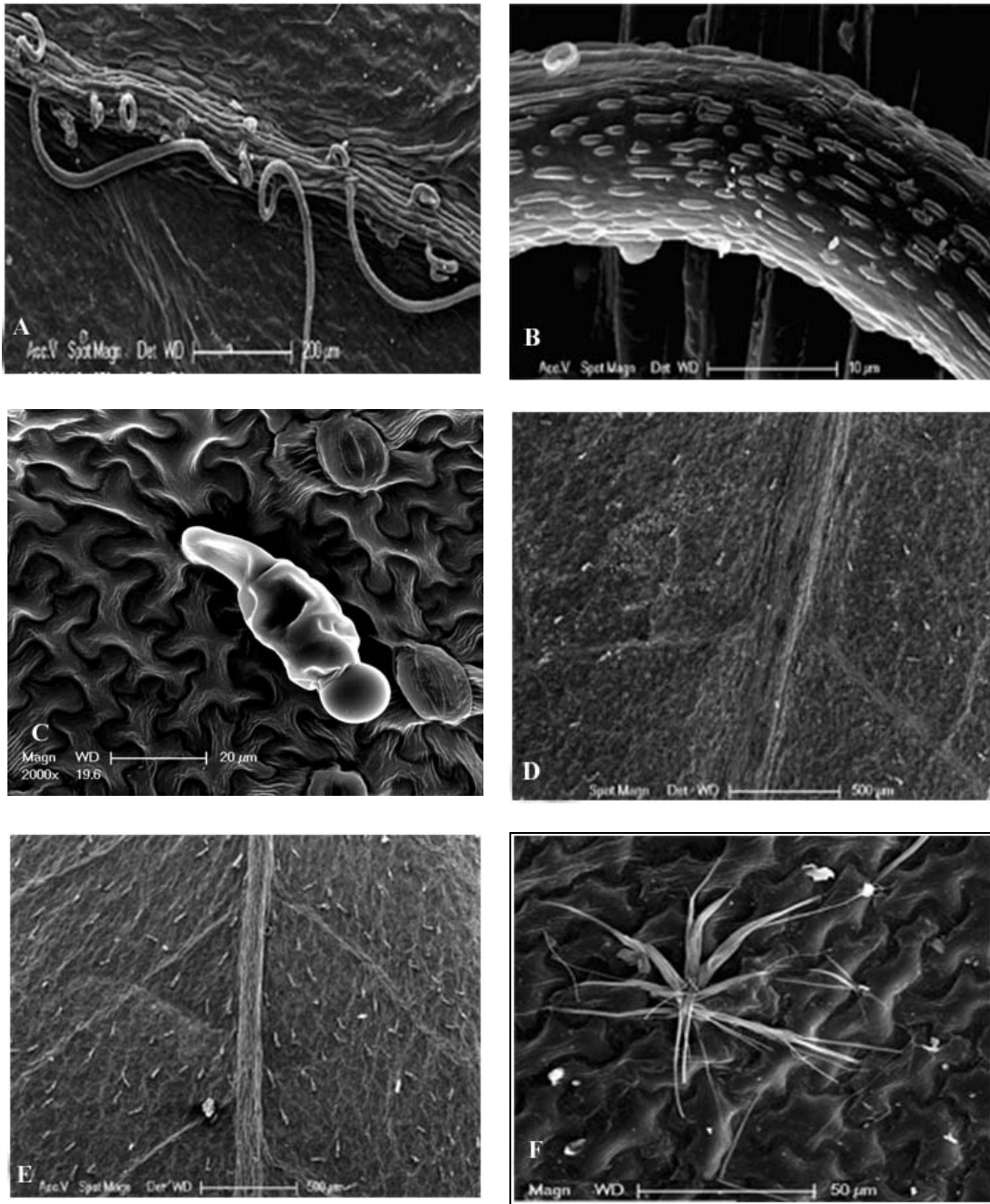


Fig. 29. Scanning electron micrographs showing epidermis and trichomes of *P. atlantica* seedling leaves. - Midrib of adaxial leaf surface, covered by elongated trichomes (A). Bar = 200µm. - Elongated trichomes in parallel rows (B). Bar=10µm. - Glandular trichome (C). Bar= 20 µm. - Low density of glandular trichomes in Medea population (D) compared to Bechar population (E). Bar = 500µm. - Tufted hairs at the adaxial leaf surface in Medea population (F). Bar= 50µm.

Tab. 4. Concentrations of terpenoids ($\mu\text{g g}^{-1}$ dw) found in female *Pistacia atlantica* ssp. *atlantica* leaves from low, medium and high aridity sites in Algeria. Mean of 10 extractions per site with standard errors.

Group		Compounds	AI	Compound content in leaves ($\mu\text{g g}^{-1}$ dw) and location			P
				Low aridity	Medium aridity	High aridity	
Hydrocarbon monoterpenes	1	tricyclene	914	1.2±0.2 b	2.4±0.4 b	8.7±0.5 a	<0.001
	2	α -pinene	926	10.0±0.4 c	24.5±0.8 b	49.4±1.0 a	<0.001
	3	camphene	941	3.1±0.5 b	5.5±0.9 b	23.2±1.1 a	<0.001
	4	thuja-2,4(10)-diene	948	1.0±0.1 a	0.6±0.0 b	-	<0.001
	5	β -pinene	971	6.5±2.3 b	18.1±0.9 a	12.6±0.7 ab	<0.001
	6	mentha-1,3,5-triene, p-	1007	0.7±0.1 a	0.1±0.0 b	-	<0.001
	7	cymene, p-	1023	0.7±0.1 b	1.9±0.2 a	0.2±0.0 b	<0.001
	8	γ -terpinene	1058	0.6±0.3 ab	1.6±0.3 a	0.3±0.0 b	<0.001
Oxygenated monoterpenes	9	sabinene hydrate, cis- (IPP vs OH)	1067	0.4±0.2 b	1.6±0.3 a	0.2±0.0 b	<0.001
	10	NI	1088	0.6±0.1 a	0.5±0.0 a	0.2±0.0 b	<0.001
	11	sabinene hydrate, trans- (IPP vs OH)	1098	0.6±0.2 b	1.5±0.2 a	0.1±0.0 b	<0.001
	12	NI	1101	5.8±1.5	3.9±0.5	4.9±0.4	>0.05
	13	α -campholenic aldehyde	1125	1.9±0.4	2.1±0.3	1.9±0.3	>0.05
	14	nopinone	1133	0.3±0.1	-	-	<0.05
	15	pinocarveol, trans-	1138	1.8±0.4 ab	1.5±0.1 b	3.2±0.4 a	<0.01
	16	verbenol, trans-	1146	6.0±1.6	3.9±0.6	6.1±0.8	>0.05
	17	3-pinocarvone, trans-	1157	1.2±0.4 ab	1.9±0.4 a	-	<0.001
	18	pinocarvone	1161	0.8±0.1 b	0.7±0.1 ab	1.2±0.2 a	<0.05
	19	terpinen-4-ol	1177	1.3±0.3 b	3.8±0.4 a	1.3±0.2 b	<0.001
	20	myrtenal	1194	0.4±0.2 b	0.6±0.2 b	1.4±0.2 a	<0.001
	21	myrtenol	1197	1.4±0.3	1.9±0.4	1.5±0.2	>0.05
	22	verbenone	1208	7.0±1.7	3.9±0.7	5.1±0.9	>0.05
	23	carveol, trans	1221	0.8±0.2 b	0.4±0.1 ab	0.9±0.1 a	<0.05
	24	borneol, iso-, acetate	1285	2.6±0.5 b	3.9±0.4 b	13.9±0.7 a	<0.001
Hydrocarbon sesquiterpenes	25	δ -elemene	1337	1.4±0.6 b	14.0±3.7 a	22.0±1.8 a	<0.001
	26	α -cubebene	1349	0.3±0.0 b	0.7±0.2 b	1.5±0.2 a	<0.001
	27	α -copaene	1375	0.2±0.0 b	0.5±0.1 ab	1.0±0.1 a	<0.001
	28	β -bourbonene	1383	0.9±0.2	1.2±0.2	0.8±0.2	>0.05
	29	β -cubebene	1389	0.2±0.0 b	0.5±0.1 ab	0.8±0.1 a	<0.001
	30	β -elemene	1392	0.1±0.0 b	0.5±0.1 ab	0.8±0.2 a	<0.001
	31	β -ylangene	1418	1.6±0.2 b	9.0±1.3 a	7.2±0.9 a	<0.001
	32	β -copaene	1429	0.5±0.1 b	1.2±0.1 b	3.8±0.6 a	<0.001
	33	γ -elemene	1433	0.5±0.0 b	2.6±0.8 b	7.4±0.9 a	<0.001
	34	Guaia-6,9-diene	1438	0.3±0.1 b	2.0±0.2 a	1.9±0.4 a	<0.001
	35	NI	1444	0.1±0.0 b	0.6±0.1 b	1.3±0.2 a	<0.001
	36	NI	1453	0.2±0.1 b	1.4±0.3 a	2.2±0.3 a	<0.001
	37	caryophyllene, 9-epi-	1461	0.8±0.2 b	4.0±0.6 a	3.8±0.3 a	<0.001
	38	NI	1470	0.8±0.4	0.4±0.0	1.1±0.1	>0.05
	39	germacrene D	1482	3.0±0.4 b	5.2±1.0 b	29.0±2.9 a	<0.001
	40	γ -amorphene	1496	1.8±0.6 b	15.5±2.8 a	20.5±2.2 a	<0.001
	41	α -muurolene	1501	0.3±0.0 b	3.7±0.4 a	0.9±0.1 b	<0.001
	42	γ -cadinene	1515	0.3±0.0 b	0.7±0.1 b	2.0±0.3 a	<0.001
	43	δ -cadinene	1524	1.0±0.1 b	2.0±0.2 b	4.9±0.6 a	<0.001

Oxygenated sesquiterpenes	44	cubebol	1518	1.1±0.1 b	1.2±0.1 ab	1.7±0.1 a	<0.01
	45	NI	1527	0.7±0.4	1.4±0.2	1.6±0.3	>0.05
	46	elemol	1552	0.7±0.1 b	2.1±0.6 b	5.8±0.9 a	<0.001
	47	NI	1557	1.0±0.2 b	2.0±0.6 ab	3.1±0.7 a	<0.05
	48	NI	1568	0.4±0.0	0.5±0.2	0.8±0.2	>0.05
	49	spathulenol	1581	23.2±1.1c	72.9±1.9 b	114.4±2.2 a	<0.001
	50	NI	1586	3.5±0.8 b	10.1±0.6 a	3.4±0.3 b	<0.001
	51	NI	1590	0.4±0.1 b	1.2±0.3 ab	2.4±0.5 a	<0.01
	52	salvial-4(14)-en-1-one	1595	0.8±0.1 b	1.5±0.2 ab	2.4±0.3 a	<0.001
	53	NI	1609	0.6±0.2 b	1.1±0.2 ab	1.9±0.5 a	<0.05
	54	NI	1615	1.4±0.2 b	2.8±0.3 b	5.1±0.8 a	<0.001
	55	NI	1620	0.7±0.2	1.0±0.5	0.8±0.1	>0.05
	56	germacrene D-4-ol	1623	0.3±0.0 b	0.8±0.2 b	2.1±0.3 a	<0.001
	57	γ-eudesmol	1634	0.2±0.0 b	0.7±0.1 b	1.3±0.2 a	<0.001
	58	NI	1641	1.4±0.3 b	9.5±1.2 a	12.8±1.3 a	<0.001
	59	α-muurolol	1645	0.3±0.1 b	1.1±0.1 ab	1.6±0.3 a	<0.001
	60	cedr-8(15)-en-10-ol	1650	0.5±0.1 b	1.3±0.3 ab	2.7±0.4 a	<0.001
	61	β-eudesmol	1653	0.4±0.0 b	2.0±0.3 b	4.7±0.5 a	<0.001
	62	NI	1657	2.0±0.2 b	3.7±0.8 b	10.2±1.3 a	<0.001
	63	NI	1677	0.7±0.3 b	2.3±0.3 a	0.7±0.1 a	<0.001
Others	64	hex-3-en-1-ol benzoate, (Z)-	1572	tr	0.5±0.1	1.0±0.1	
	65	actinolide, dihydro-	1530	2.0±0.3	2.8±0.3	2.3±0.1	

NI : Non Identified, AI : Arithmetic Index of Adams (2007) calculated with the formula of Van den Dool and Kratz (1963), tr: trace

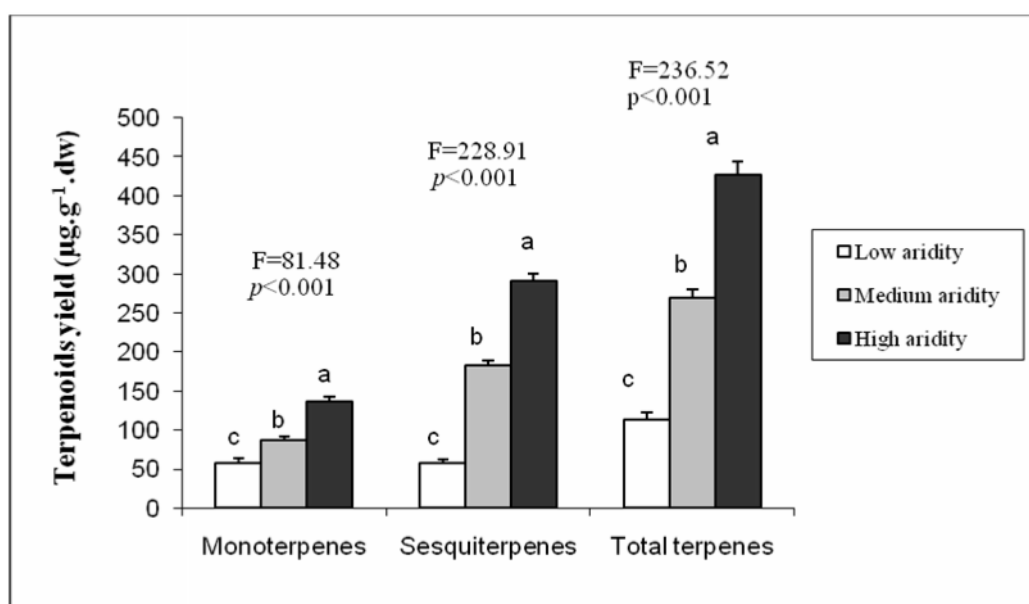


Fig. 30. Variance analysis of monoterpene, sesquiterpene and total terpene contents found in female *Pistacia atlantica* ssp. *atlantica* leaves from low, medium and high aridity sites in Algeria. Means of n=10 with standard errors, p < 0.05.

Multivariate analysis was applied to the terpenoid contents of 30 solvent extracts. **Fig. 31** shows the two-dimensional mapping of the Principal Component Analysis which comprises 77% of the total inertia. Axis 1 represents 62% of the information and is characterized on the positive side by *thuja-2,4(10)-diene* and on the negative side by a couple of compounds, essentially *tricyclene*, α -pinene, *camphene*, *isoborneol acetate*, β -cubebene, β -copaene, *germacrene D*, δ -cadinene and *spathulenol*. Axis 2 representing 15% of the information is characterized on the negative side by β -pinene and *terpinen-4-ol*.

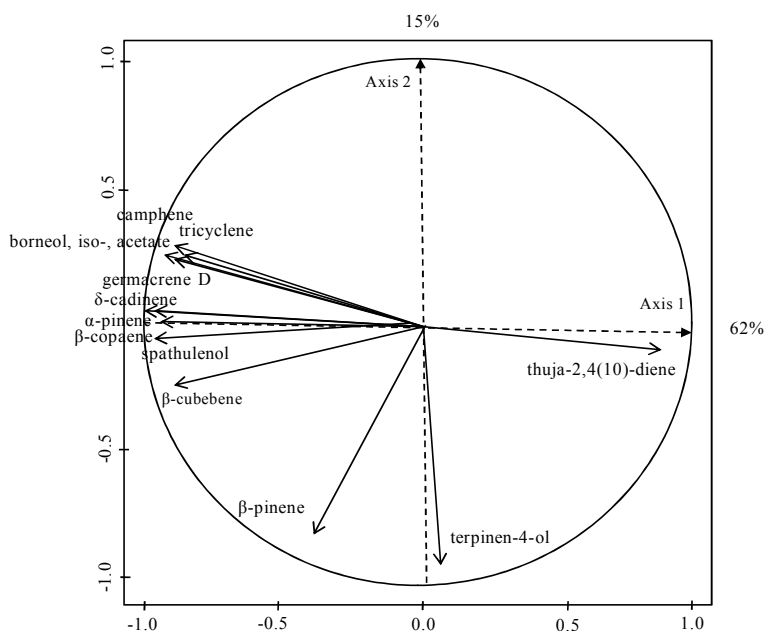


Fig. 31. Correlation of occurrences of terpenoid compounds ($\mu\text{g g}^{-1}$ dw) from female *Pistacia atlantica* ssp. *atlantica* leaves from low, medium and high aridity sites in Algeria; shown are only those terpenoids among which high correlation could be found.

Positions of the individual samples from leaf extractions in the two-axes space show an overall homogeneity between leaf extracts belonging to the same study site (**Fig. 32**). Three main groups which are characterized by the geographical provenances can be distinguished. The first group is situated on the positive side of Axis 1 and includes samples from individuals of the low aridity site. The second group is located on the negative side of Axis 1 and includes all individuals of the high aridity site. The third group situated on the negative side of Axis 2, between the points related to samples from the two extreme sites, includes in the majority samples from individuals of the medium aridity site. These three groups are clearly separated along Axis 1 which can be interpreted as indicating the aridity gradient. The most discriminating variables encompass α -pinene, *spathulenol*, δ -cadinene and β -copaene.

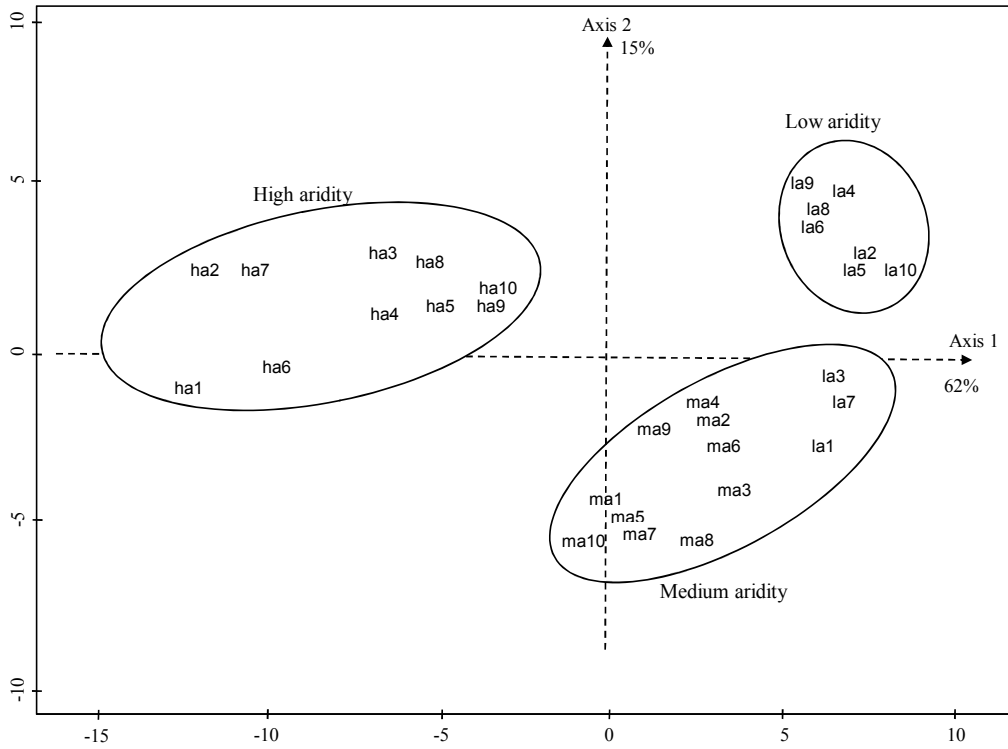


Fig. 32. Two dimensional PCA of *Pistacia atlantica* ssp. *atlantica* individual samples originating from low (la), medium (ma) and high (ha) aridity sites in Algeria.

1.4. Discussion

Increase of epidermis, cuticle, palisade parenchyma and total leaf thickness with the degree of aridity may enhance survival and growth of *P. atlantica* by improving water relations and providing higher protection for the inner tissues in the high aridity site. Such patterns were observed in many species submitted to water stress (e.g., Bussotti *et al.*, 2002; Bacelar *et al.*, 2006; Guerfel *et al.*, 2009). Also, a pronounced decrease of leaf size reduces transpiration in sites where water is scarce, as also reported for other plants (Huang *et al.*, 2009; Macek *et al.*, 2009). The high morphoanatomical plasticity of *Pistacia atlantica* in response to aridity may explain its wide ecological distribution in northern Africa. Trichomes are considered as important taxonomic characters (Krak and Mraz, 2008; Salmaki *et al.*, 2009; Shaheen *et al.*, 2009). The absence of tufted hairs in Bechar population suggests the existence of genetic differences between the populations studied.

Regarding the phytochemistry of *P. atlantica*, no data were reported before on extractable terpenoids composition of the *Pistacia* leaves. However, qualitative and quantitative analyses

of essential oils from leaves of *P. atlantica* were reported by several authors. Oils from female plants originating from Greece contained myrcene (17.8-24.8%), sabinene (7.8-5.2%) and terpinene (6-11.6%) as major components (Tzakou *et al.*, 2007).

Some compounds found in our samples like γ -amorphene, p-mentha-1,3,5-triene, cis- and trans-sabinene hydrate, α -campholenic aldehyde, trans-verbenol, myrtenal, myrtenol, verbenone, α -muurolene and spathulenol were not found in leaves of *P. atlantica* from Greece. A provenance from Morocco the sex of which was not specified was rich in terpinen-4-ol (21.7%) and elemol (20.0%) (Barrero *et al.*, 2005). These compounds were found in small amounts (less than 1.1%) also in our samples. Recently, Gourine *et al.* (2009) have identified 31 compounds from samples harvested at Laghouat with β -pinene (19.1%), α -terpineol (12.8%), bicyclogermacrene (8.2%) and spathulenol (9.5%) as the principal molecules. Qualitative and quantitative differences between literature data and our results may be explained by such factors as sex of the plants (Tzakou *et al.*, 2007), period of plant collection (Barra *et al.*, 2007; Gardeli *et al.*, 2008; Hussain *et al.*, 2008), plant competition (Ormeño *et al.*, 2007b), position of leaves in the trees (Gambliel and Cates, 1995; Barnola *et al.*, 1997), soil nutrient availability (Yang *et al.*, 2005; Ormeño *et al.*, 2008; Blanch *et al.*, 2009) and water availability (Turtola *et al.*, 2003; Blanch *et al.*, 2009). Moreover, according to the method of extraction used, recovering the true components of the plant *in vivo* still remains a matter of debate. Indeed through hydrodistillation, thermal hydrolysis in acid medium may be a source of artifacts in terms of the essential oil composition (Adams, 1991).

However, the chemical analysis indicated that there are significant differences between the three populations which were analyzed by the same methods. These differences comprise both the quantitative and the qualitative composition of the terpenoids. Spathulenol and α -pinene are the dominant compounds that clearly discriminate quantitatively the three stations. Although being identified in minor contents from samples of low and medium aridity stations, thuja-2,4(10)-diene, p-mentha-1,3,5-triene, nopinone and trans-3-pinocarvone were not registered from high arid station samples. This raises the question of the role of individual terpenoid components in plant responses to aridity and the central issue of phenotypic/genotypic diversity of the investigated populations.

Allelopathic proprieties of α -pinene are reported in literature. This hydrocarbon monoterpene inhibits the radicle growth of several species, enhances root solute leakage and increases level of malondialdehyde, proline and hydrogen peroxide indicating lipid peroxidation and induction of oxidative stress (Singh *et al.*, 2006). It is likely that, the high content of α -pinene found in the leaves from the driest site may influence interspecific competition for water resources. For all sites investigated, the understory diversity was low, composed mainly of *Ziziphus lotus*. Hence, α -pinene might play direct and indirect roles in *P. atlantica* responses to drought situations.

Spathulenol is an azulenic sesquiterpene alcohol that occurs in several plant essential oils (Mevy *et al.*, 2004; Cavar *et al.*, 2008). Azulenes are also known as allelochemicals (Inderjit *et al.*, 1999). Especially their bactericidal activity has been proven as well as their function as plant growth regulator precursors (Muir and Hansch, 1961; Konovalov, 1995). Azulene is a polycyclic hydrocarbon, consisting of an unsaturated five member ring linked to an unsaturated seven member ring. This molecule absorbs red light 600 nm for the first excited state transition and UVA 330 nm light for the second excited state transition producing a dark

blue color in aqueous medium (Tetreault *et al.*, 1999). The high content of spathulenol found from leaves collected in the high arid station may be interpreted as a defense mechanism against deleterious effects of biotic interactions and UV-light during summer.

Our results are in accordance with several authors who reported increased terpene concentrations in plants under high temperature and water stress conditions (Llusià and Peñuelas, 1998; Loreto *et al.*, 2004; Peñuelas *et al.*, 2005; Llusià *et al.*, 2009). For instance, 54 and 119 % increases of total terpene contents under drought treatment were recorded from *Pinus halepensis* and *Quercus ilex*, respectively (Blanch *et al.*, 2009). Because monoterpene biosynthesis is strictly dependent on photosynthesis (López *et al.*, 2008) the increase of their content along with aridity suggests an involvement of specific metabolic pathways that sustain photosynthesis in harsh environmental conditions. In our study, the high thickness of palisade parenchyma can be mentioned in favor of this assumption. On the other hand, monoterpenes act as plant chloroplast membrane stabilizers and protectors against free radicals due to their lipophily and the presence of double bonds in their molecules (Peñuelas and Llusià, 2002; Chen *et al.*, 2009). Hence, the increase of monoterpenes may be considered as a regulatory feed-back loop that protects photosynthesis machinery from oxidative and thermal damages.

Glandular trichomes are one of the most common secretory structures that produce and store essential oil in plants (Covello *et al.*, 2007; Giuliani and Bini, 2008; Biswas *et al.*, 2009). The high terpenoid contents in Bechar population could be related to the high density of glandular trichomes in this population, which would be also in accordance with other results found by several authors (Mahmoud *et al.*, 2004; Fridman *et al.*, 2005; Ringer *et al.*, 2005).

δ -cadinene and β -copaene are two compounds found in low contents (0.5-3.8 and 1-4.9 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw, respectively) and are similarly as spathulenol and α -pinene correlated with the increased aridity the populations are experiencing. Except for antibacterial effects (Townsend *et al.*, 2005; Bakkali *et al.*, 2008), no information is available about specific ecological roles of β -copaene and δ -cadinene. It should be noted that they are germacrene D derivatives (Bülow and König, 2000) which is found in high concentration in *Cupressus sempervirens* after long term water stress (Yani *et al.*, 1993). Also, the content of germacrene D from *Pistacia lentiscus* was shown to increase four time during the summer season compared to spring (Gardeli *et al.*, 2008).

The different terpenoids can be appreciated as aridity markers characterizing the three *P. atlantica* populations. It is not clear whether they are constitutively synthesized or induced by the environmental conditions. Morphological data of leaves indicate that the three populations significantly differ. Scanning electronic microscopy of leaves of seedlings from the high aridity and low aridity provenances grown under controlled conditions reveals that the two populations keep their morphological differences with respect to trichome typology and density. Hence it is likely that the three populations investigated indeed are genetically different. Therefore the chemical variability observed might be as well genetically based. This should be tested in the future by submitting clones selected from the three populations to the same conditions of drought.

2. Le stress hydrique chez les plantules de *Pistacia atlantica* Desf. : analyse des échanges gazeux et de la fluorescence de la chlorophylle.

Cette étude fera objet d'un article qui sera soumis ultérieurement dans une revue à renommée établie. Titre en anglais: Water deficit stress in Pistacia atlantica Desf. seedlings: gas exchange and chlorophyll fluorescence analysis.

Résumé. Nous nous sommes intéressés dans ce travail aux effets du stress hydrique sur le comportement écophysologique des plantules du pistachier de l'Atlas. Des plantules issues de la germination des graines en provenances de deux sites; l'un à Béchar (site plus aride) et l'autre à Médéa (site moins aride) ont fait objet d'un stress hydrique pendant 17 jours avant de les arroser de nouveau. Pour chaque provenance, nous avons mesuré avant, durant le stress hydrique ainsi qu'au moment de leur résilience les paramètres suivants : Fv/Fm, Φ PSII, ETR et qP ainsi que les paramètres des échanges gazeux à savoir Φ CO₂, gs et Pn. Les plantules originaires de la station la plus aride (Béchar) semblent être les plus résistantes au stress hydrique comparées à celles originaires de la station la moins aride (Médéa) et dont la moitié des individus ont flétri au milieu de la période de stress hydrique.

Le stress hydrique réduit significativement l'ensemble des paramètres de fluorescence et des échanges gazeux étudiés pour chacune des provenances et ceci avec des degrés plus atténués chez les populations de Médéa. La photosynthèse semble être limitée essentiellement par la fermeture des stomates qui est l'une des stratégies efficaces d'adaptation à la sécheresse. La photoinhibition des appareils photosynthétiques due au stress hydrique est réversible du fait de leur résilience rapide après arrosage ce qui constitue un indicateur d'une grande tolérance physiologique de ces plantules à la sécheresse. Cette tolérance à la sécheresse qui est caractéristique de l'espèce semble être un caractère transmissible et donc héréditaire.

Mots-clés: pistachier de l'Atlas, stress hydrique, échanges gazeux, fluorescence, stomates

2.1. Introduction

Les climats méditerranéens sont caractérisés par des étés secs et chauds pendant lesquels les précipitations se font rares comme c'est le cas de certaines régions du Sahara Algérien. Le stress hydrique est de loin le principal facteur environnemental qui limite la croissance et la productivité des végétaux dans le monde et spécialement dans les régions semi-aride et aride (Chaves *et al.*, 2003; Rouhi *et al.*, 2007; Yin *et al.*, 2009). Il constitue l'un des principaux enjeux des changements climatiques futurs (Ciais *et al.*, 2005; Loreto and Centritto, 2008).

La photosynthèse est l'une des fonctions la plus sensible au stress hydrique car l'eau est un donneur d'électrons nécessaires pour le maintien de cette fonction physiologique (Suresh *et al.*, 2010; Aishah *et al.*, 2011). Elle dépend de la sévérité et de la durée de ce stress (Vadell et Medrano, 1992).

Les effets du stress hydrique sur la photosynthèse ont été évoqués par de nombreux auteurs. Dans l'ensemble, il y a réduction de l'activité photosynthétique des plantes qui serait due soit à la résistance à la diffusion de CO₂ par la fermeture des stomates (Haimeirong et Kubota,

2003; Lio *et al.*, 2004; Cechin *et al.*, 2006) ou par des altérations des processus métaboliques (Bernacchi *et al.*, 2002; Flexas *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2007).

La combinaison des mesures de la fluorescence chlorophyllienne et celles des échanges gazeux est une approche indispensable pour la distinction des effets stomatiques *versus* non stomatiques dans la limitation de la photosynthèse mais aussi l'estimation des principales voies d'utilisation d'énergie, telles la photorespiration et la dissipation thermique (Valentini *et al.*, 1995; Flexas *et al.*, 1999).

Pour maintenir leur survie, les végétaux ont développé des stratégies adaptatives leur permettant de persister dans leur habitat naturel. Elles se manifestent dans un premier temps, par des ajustements qui s'opèrent au niveau des feuilles et qui sont de premières importances suivies par des modifications à long terme touchant l'ensemble de l'organisme (Chaves *et al.*, 2003; Flexas *et al.*, 2006).

Le pistachier de l'Atlas est un arbre des régions semi-arides et arides algériens. Cette espèce régresse d'année en année suite aux facteurs anthropiques mais aussi aux problèmes liés à sa régénération. En outre, le peu de plantules qui échappent au pâturage sont confrontées aux problèmes d'aridité qui les menacent d'avantage. Le comportement écophysio-logique des plantules de cette espèce à l'aridité n'a fait aucun objet d'études. Nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude de la réponse des plantules de cette espèce au stress hydrique induit par omission de leur irrigation durant une période de 12 jours et ce dans le double but de simuler les conditions d'aridité auxquelles les plantules sont confrontées *in situ* notamment en saison estivale mais aussi de prévoir le comportement de ces plantules dans le cadre des changements climatiques. Aussi, le suivi de la résilience de ces plantules au moment où l'eau redevient disponible est d'un intérêt fondamental.

2.2. Matériel et méthodes

2.2.1. Germination des graines

Les graines de *P. atlantica* Desf. sont récoltées au mois d'Août 2008 (au stade de maturation), dans deux sites extrêmes, Médéa et Béchar. Après un séchage à l'air libre durant 20 jours, ces graines sont conservées au réfrigérateur (-2°C) jusqu'à leur mise à germination. Après une scarification mécanique (couper délicatement un fragment de l'épicarpe de la partie convexe du fruit sans toutefois abimer l'embryon pour faciliter l'imbibition de la graine), ces graines sont mises à germer dans des boîtes de Pétri stérilisées à l'alcool (25 jours de germination au mois de mars 2009). Des plantules au stade d'une seule foliole sont transplantées dans des pots contenant du sable (2/3) et de la tourbe (1/3) et laissées accroître dans une chambre de culture de l'université de Provence dont les conditions sont : température 25°C , le photopériodisme fixé à 11/13h et une radiation lumineuse de $500 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

2.2.2. Stress hydrique des plantules de *Pistacia atlantica*

16 plantules du pistachier de l'Atlas (8 issues de la station de Médéa et 8 autres de la station de Béchar), âgées de 11 mois et ayant pratiquement la même taille sont soigneusement choisies. Dans la salle de culture, ces plantules ont subi un stress hydrique pendant une durée de 17 jours. Au delà de ce stade, nous avons arrosé les plantules pour étudier leurs capacités de résilience après un stress hydrique.

2.2.3. Mesures des échanges gazeux et de la fluorescence chlorophyllienne

Les plantules de *P. atlantica* soumises au stress hydrique ont fait objet de mesures des échanges gazeux couplées à celles de la fluorescence de la chlorophylle foliaire. Tous les deux jours, durant toute la période de stress hydrique et pour chaque provenance, 3 mesures par plantule de la conductance stomatique (g_s), efficacité réelle de l'utilisation de la lumière (Φ_{PSII}), rendement quantique de la réduction du CO_2 (Φ_{CO_2}) et le pourcentage des centres réactionnels des photosystèmes qui sont à l'état ouvert (qP) sont réalisées. Les mêmes paramètres sont aussi mesurés au moment de la résilience de ces plantules.

Ces mesures sont réalisées à l'aide d'un Li-COR 6400 XT U.S.A. équipé d'une chambre de fluorescence. Les capteurs de mesures sont deux IRGA (Infra Red Gas Analyser) affectés l'un à l'air de référence, l'autre à l'air soumis à l'échantillon. Ces IRGA sont à proximité immédiate avec la chambre de mesure qui se trouvent réunies dans la même pièce.

Durant les mesures, le CO_2 et la température de l'air et l'humidité relative dans la chambre de feuilles de mesures sont maintenus à $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ et 25°C et 70%, respectivement. Le niveau de PAR est fixé à $500 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Les mesures ne sont réalisées que lorsque la conductance stomatique et l'assimilation du CO_2 sont stables. Il est important de procéder au contrôle de l'étalonnage des IRGA, de l'efficacité des pièges et de l'étanchéité du système avant toute mesure.

2.2.4. Observation des feuilles de plantules au M.E.B.

3 feuilles par plantule et par provenance sont prélevées puis séchées en herbier. Trois folioles par feuille sont enrobées avec de l'or, avant leur observation micromorphologique (phytoderologique) au microscope électronique à balayage : FEI XL30 ESEM (U.S.A) de l'université de Provence de Marseille.

2.2.5. Analyses statistiques

Les données des échanges gazeux et de la fluorescence chlorophyllienne sont analysées par une Anova à une ou à deux variable(s). Le test de Newman-Keuls permet de tester la significativité des différences des variables mesurées entre les deux provenances du pistachier de l'Atlas étudiées. Ces analyses sont réalisées à l'aide d'un logiciel R (R Development Core Team, 2009), en utilisant le package *agricolae* (de Mendiburu, 2010).

2.3. Résultats et Discussion

Les plantules du pistachier de l'Atlas originaires de la station de Médéa semblent être plus sensibles au stress hydrique comparées à celles de la station la plus aride (Béchar). En effet, au bout du 16ème jour du stress hydrique induit par omission de leur arrosage, 37% des plantules de la première station ont visiblement flétri et leurs feuilles ont complètement séché comparées aux plantules de la station de Béchar qui restent en totalité vivantes durant toute la période de stress hydrique (**Fig. 33**).

La plupart des valeurs de la fluorescence chlorophyllienne (qP , Φ_{PSII} , ETR et F_v/F_m) et celles des échanges gazeux (g_s et Φ_{CO_2}) sont plus élevées chez les provenances de Béchar tout au long de la période de stress hydrique (**Fig. 34 et 37**).



Fig. 33. Plantules du pistachier de l'Atlas après 16 jours de stress hydrique. **A:** 8 plantules originaires de la station de Médéa dont la moitié (en flèche rouge) sont à feuilles sèches; **B:** 8 plantules originaires de la station de Béchar qui restent toutes vivantes.

Dans l'ensemble, il y a réduction très significative ($P < 0.001$) des différents paramètres de fluorescence et des échanges gazeux en fonction de la durée de stress hydrique imposé aux plantules de chaque provenance (**Tab. 6**). Les effets du stress hydrique (17^{ème} jour) sont plus marqués chez les plantules originaires de la station de Médéa avec des taux de réduction, par rapport au témoin; temps (0), de 95% de la photosynthèse, 68% de la conductance stomatique, 65% de Φ_{PSII} , 86% de Φ_{CO_2} , 66% de l'ETR et enfin une réduction de 27% de F_v/F_m comparée aux plantules issues de la station de Béchar dont les réductions sont plus faibles et sont respectivement de 71, 38, 25, 50, 26 et de seulement de 5%. Les mêmes tendances sont obtenues chez d'autres espèces vivants en situation de stress hydrique notamment chez des plantules de *Pistacia khinjuk* et *P. mutica* âgées de 21 mois dont les taux de réduction sont de l'ordre de 42% pour la photosynthèse et 75% pour la conductance stomatique. Aussi, ces réductions sont respectivement de l'ordre de 20-50% et 13.8% chez *Pseudotsuga menziesii* (Warren *et al.*, 2004) et 40-70% et 27.6% chez *Sorghum bicolor* (Siti Aishah *et al.*, 2011) en réponse à l'aridité.

Les stomates sont des structures épidermiques qui ont un rôle important dans les échanges gazeux et hydriques entre le milieu intérieur de la feuille et l'atmosphère (Miyashita *et al.*, 2005). Les plantules du pistachier de l'Atlas semblent contrôler efficacement les mouvements de leurs stomates en les fermant aussitôt que les premiers signes du stress hydrique s'opèrent (**Fig. 34A**). Toutefois, Il semblerait que les plantules en provenance de la station la plus aride sont les plus résistantes au stress hydrique du fait de leur conductance stomatique qui décroît lentement et dont les valeurs moyennes sont statistiquement plus élevées comparées à celles de la station la moins aride. Ces plantules sont issues de la germination des graines en provenance des stations extrêmes et cultivées dans les mêmes conditions de culture; les différences observées sont donc d'origine génétique et l'adaptation à l'aridité serait par conséquent un caractère transmissible et donc héréditaire.

Tab. 5 : Analyse de variance (Test Anova à deux facteurs, 5%) des différents paramètres physiologiques : Pn, gs, ETR, Φ PSII, Φ CO₂, qP et Fv/Fm entre provenance, temps et l'interaction provenance *versus* temps.

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>Sign.</i>		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>Sign.</i>
Pn				ΦPSII			
Provenance	0.0047	0.9457		Provenance	51.633	1.3310^{-10}	***
Temps	15.4161	2.2510^{-12}	***	Temps	8.4922	1.9910^{-07}	***
Interaction	1.522	0.1789		Interaction	1.5532	0.1691	
Résiduels				Résiduels			
gs				ΦCO₂			
Provenance	17.5727	6.0710^{-05}	***	Provenance	0.4695	0.4948	
Temps	9.4172	3.7510^{-08}	***	Temps	14.8373	5.3310^{-12}	***
Interaction	0.2763	0.9469		Interaction	1.791	0.1087	
Résiduels				Résiduels			
ETR				qP			
Provenance	51.5316	1.3710^{-10}	***	Provenance	52.9573	8.5410^{-11}	***
temps	8.4162	2.2810^{-07}	***	Temps	6.8371	4.4210^{-06}	***
Interaction	1.5414	0.1727		Interaction	2.0723	0.0633	
Résiduels				Résiduels			

Le control stomatique qui est courant chez de nombreuses espèces semble être un mécanisme très efficace pour économiser l'eau intracellulaire de la feuille (Flexas et Medrano, 2002; Gallé *et al.*, 2007). Toutefois, en fermant ses stomates, il y a réduction de la quantité de CO₂ disponibles dans les sites de carboxylation ce qui limite la photosynthèse (Dias et Brüggeman, 2010). La limitation stomatique de la photosynthèse comme cela est démontré par des allures identiques entre chacune de Pn (**Fig. 34B**) et Φ CO₂ (**Fig. 34C**) avec la conductance stomatique (**Fig. 34A**) fut aussi décrite chez d'autres plantules en réponse au stress hydrique auxquelles elles sont confrontées notamment chez *Pistacia mutica* et *P. khinjuk* (Ranjbarfordoei *et al.*, 2000), sis espèces d'*Eucalyptus* (Merchant *et al.*, 2007), *Mangifera indica* (Elsheery et Cao, 2008), *Incarvillea delavayi* (Cai *et al.*, 2010), *Nicotiana sylvestris* (Galle *et al.*, 2010), *Elaeis guineensis* Jacq (Suresh *et al.*, 2010), *Olea europaea* (Boughalleb et Hajlaoui, 2011), *Solanum lycopersicum* (Galmés *et al.*, 2011) ou chez *P. lentiscus* (Galmés *et al.*, 2011).

Parmi les caractères stomatiques, la densité stomatique est l'un des paramètres écophysologiques qui affecte le plus les échanges gazeux (Fu *et al.*, 2011). Elle semble être dépendante de plusieurs facteurs notamment par le stress hydrique (Bosabalidis et Kofidis, 2002). L'analyse phytodermologique révèle des stomates très denses (148 stomates/mm²) chez les plantules de populations de Béchar comparées à celle de Médéa (81 stomates/mm²) (**Fig. 35**). Des résultats similaires sont enregistrés chez d'autres populations algériennes *in situ* suivant un gradient d'aridité croissante (Ait Said *et al.*, 2003) ou chez *Leymus chinensis* (Xu *et al.*, 2009) et *Olea europaea* (Boughalleb et Hajlaoui, 2011) en réponse au stress hydrique et aux fortes températures.

Les plantes réduisent le maximum de la conductance stomatique via des ajustements de la densité stomatique ainsi que la taille du pore dans la limite de leur plasticité phénotypique (Franks *et al.*, 2009; Lammertsma *et al.*, 2011). La présence de stomates denses et à moitié ouverts chez les plantules originaires de la station la plus aride (Fig. 36) expliquerait sa plus grande résistance à l'aridité. En effet, Cuevas *et al.* (2006) notent que si la fermeture des stomates n'est pas totale, en raison de la différence entre les coefficients de diffusion de l'eau et du CO₂ dans la feuille, la transpiration est plus réduite que l'assimilation nette : l'efficacité de l'utilisation de l'eau (WUE) est alors augmentée en situation de stress.

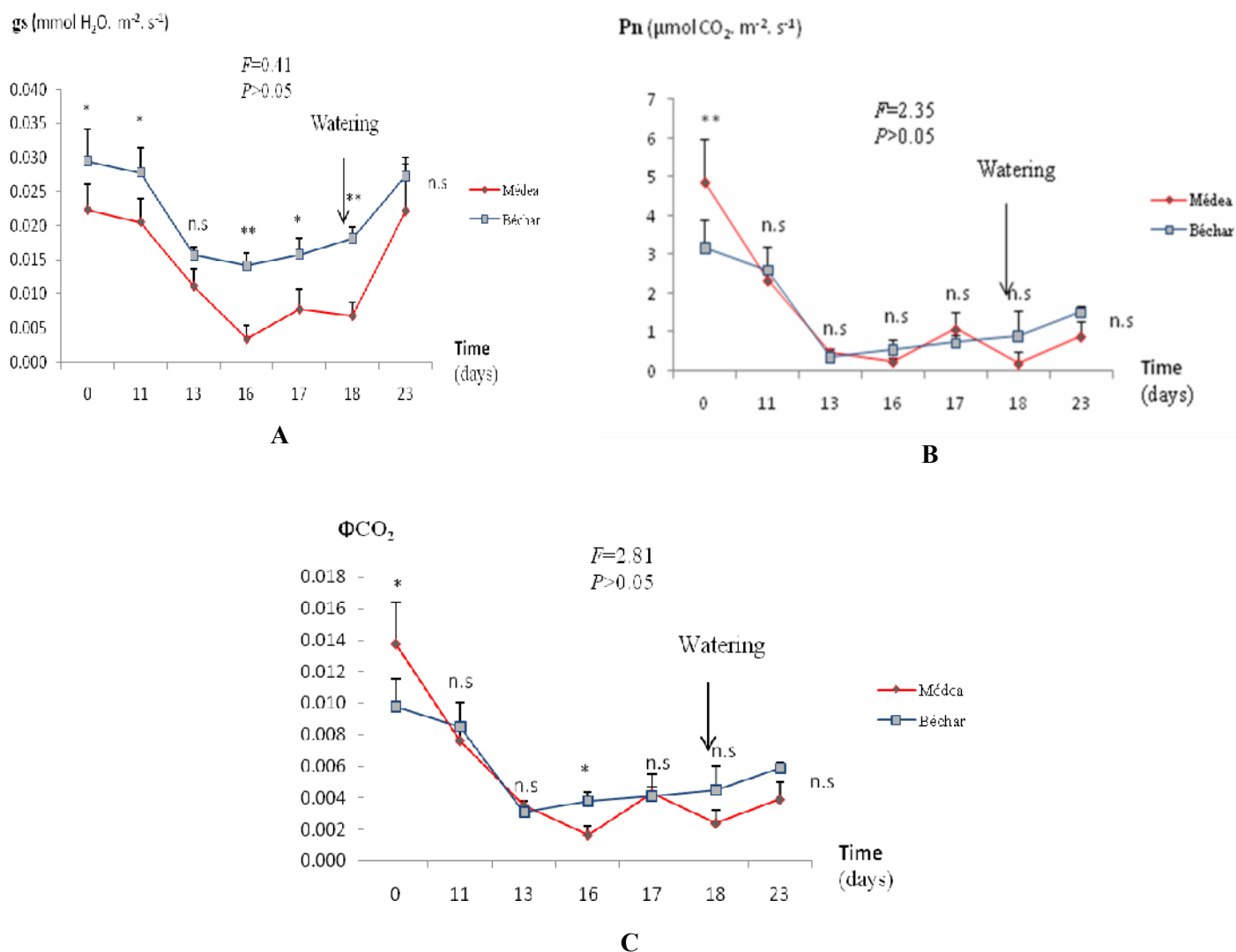


Fig. 34. Effet du stress hydrique sur les échanges gazeux chez les plantules de *Pistacia atlantica*. **A:** conductance stomatique, **B:** photosynthèse et **C:** rendement quantique de la réduction du CO₂.

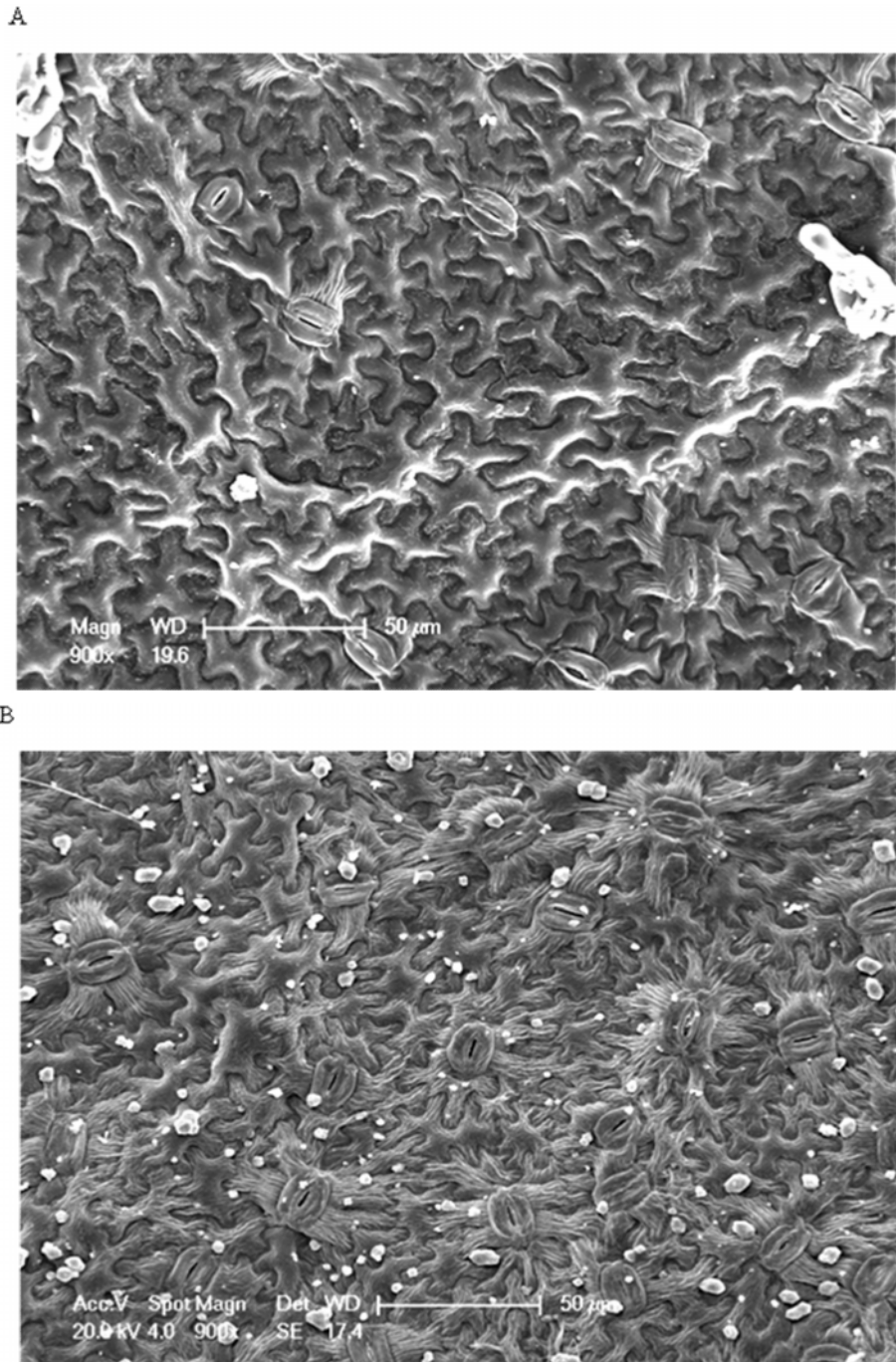


Fig. 35. Faces inférieures des folioles des plantules de *Pistacia atlantica* observées au M.E.B. La densité stomatique est statistiquement plus faible (81 stomates/mm²) chez **A**: les plantules originaires de Médéa comparée à **B**: celles en provenance de Béchar (148 stomates/mm²).

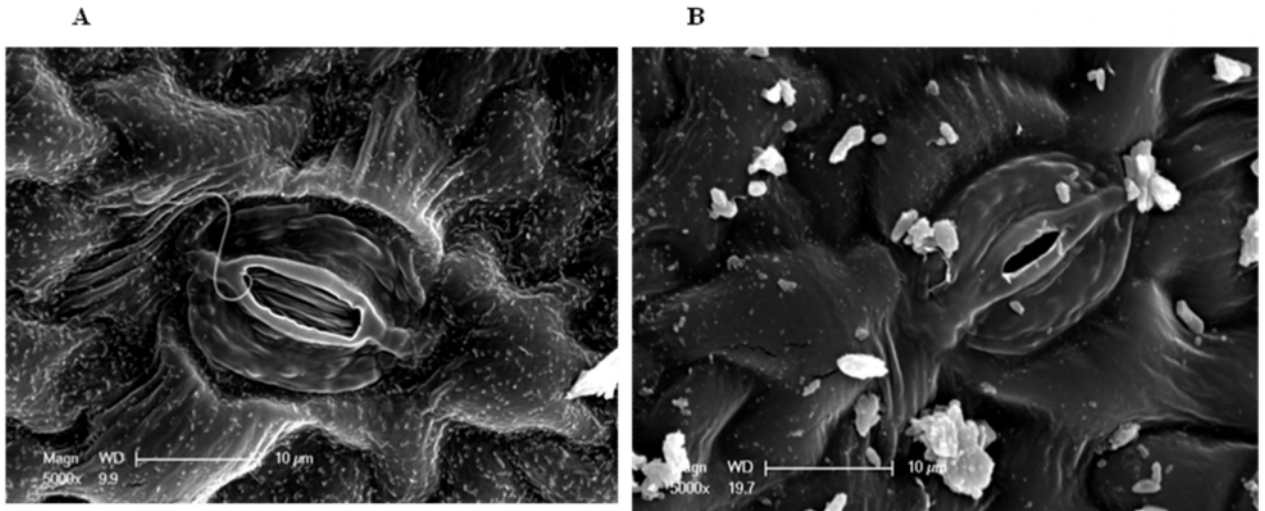


Fig. 36. Les différents états de stomates dans les feuilles des plantules du pistachier de l'Atlas au moment du stress hydrique. **A:** Stomate de grande taille fermé dans la station de Médéa, **B:** stomate de petite taille à moitié ouvert dans la station de Béchar.

Nous avons observé une réduction des paramètres physiologiques mesurés jusqu'au 13^{ème} jour de stress hydrique. Au delà de ce stade, il y a une légère reprise et de façon progressive de la conductance stomatique, ETR, qP et de la photosynthèse ce qui se traduit par un début d'adaptation de ces plantules au stress hydrique. L'énergie générée par l'augmentation de l'ETR à partir du 13^{ème} jour pourrait servir à la synthèse des enzymes antioxydantes impliquées dans la protection contre l'oxydation cellulaire (García-Plazaola *et al.*, 2008).

Le stress hydrique induit, à l'instar des autres espèces telles *Incarvillea delavayi* (Cai *et al.*, 2010) la photoinhibition de l'appareil photosynthétique chez les plantules du *Pistacia atlantica* des deux provenances tel que démontré par une réduction des taux de Fv/Fm (**Fig. 37A**), ΦPSII (**Fig. 37B**) et de l'ETR (**Fig. 37C**). Ceci pourrait être expliqué par l'incapacité des plastoquinones (responsables de transport des électrons entre PSI et PSII pour les voies photochimiques) de réaliser les réactions d'oxydoréduction comme l'ont souligné (Suresh *et al.*, 2010) chez les plantules de *Elaeis guineensis*. Aussi, elle peut être en relation avec la fermeture d'une bonne part des centres réactionnels comme ceci est illustré par des cinétiques décroissantes de qP en fonction de la sévérité du stress hydrique (**Fig. 37D**). Ces centres réactionnels sont les sites de conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique et par conséquent le lieu où se fait la séparation de charge.

La photoinhibition des appareils photosynthétique chez les plantules du pistachier de l'Atlas le long du stress hydrique est réversible. En effet, nous assistons à une reprise de l'activité physiologique des plantules juste après leur arrosage. Cette résilience qui est très rapide chez les provenances étudiées essentiellement pour la photosynthèse et la conductance stomatique a aussi été observé chez de jeunes plants de *Quercus pubescens* (Gallé *et al.*, 2007), *Chamomilla recutita* (Baczek-Kwinta *et al.*, 2011), *Gossypium hirsutum* (de Brito *et al.*, 2011) et *Ceratonia siliqua* (Osório *et al.*, 2011) après une période de stress et pourrait être un indicateur d'une grande tolérance physiologique de ces plantules à la sécheresse (Torrecillas *et al.*, 1996). A l'exception des variables gs, Fv/Fm, ΦCO₂ et Pn ($P > 0.05$), des différences significatives sont observées entre les deux provenances pour les autres variables; ΦPSII,

ETR et qP au moment de leur résilience avec des moyennes les plus élevées observées chez les provenances de Béchar (Tab. 7).

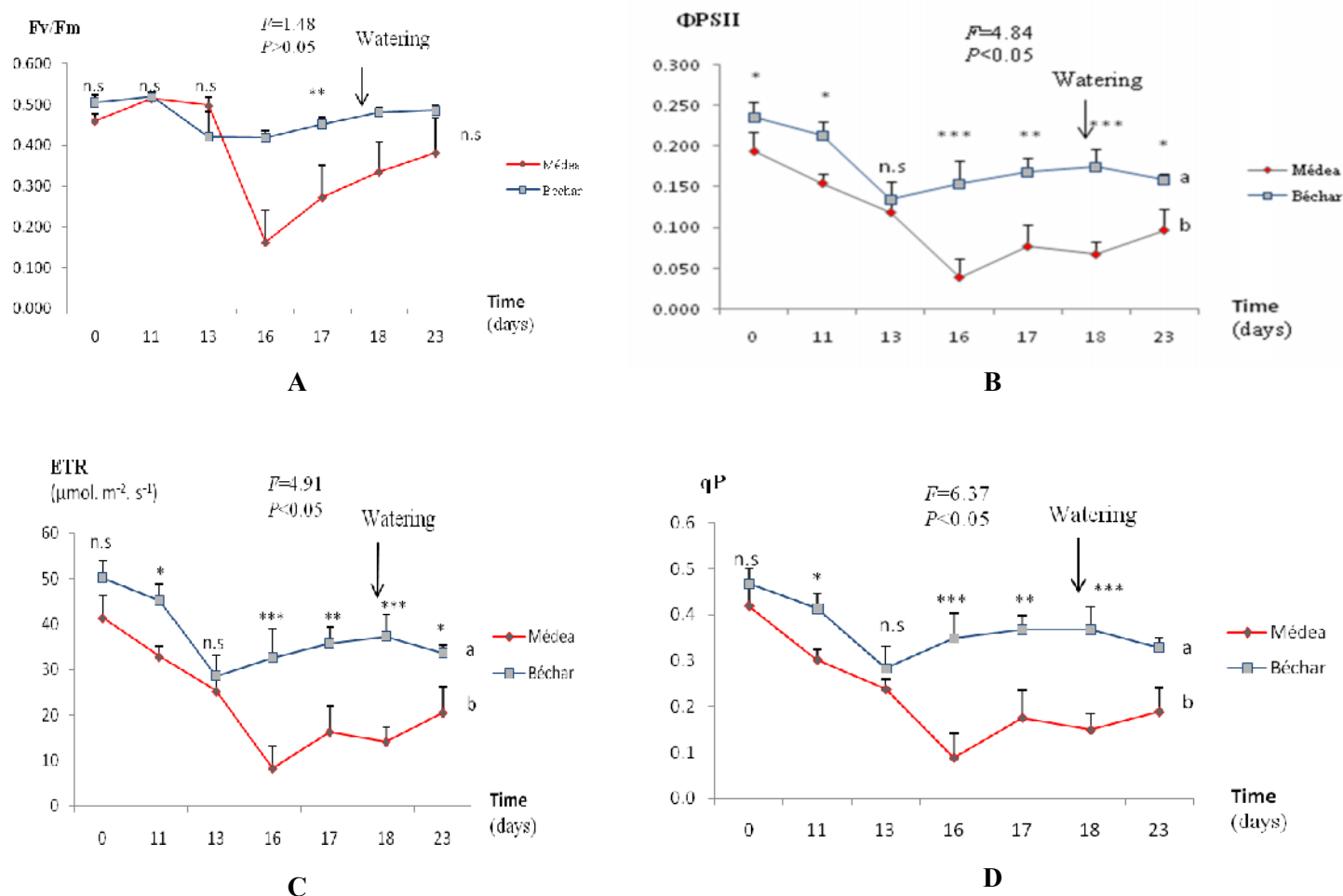


Fig. 37. Effet du stress hydrique (induit par omission de l'irrigation) sur les paramètres de fluorescence chlorophyllienne chez les plantules de *Pistacia atlantica*. **A:** efficacité quantique maximale, **B:** efficacité réelle d'utilisation de la lumière, **C:** taux de transfert des électrons à travers le PSII. **D:** coefficient du quenching photochimique.

Nous supposons que durant cette période de stress, d'autres stratégies telles la régulation du métabolisme cellulaire participent d'avantage à l'adaptation des plantules du pistachier de l'Atlas au déficit hydrique. L'ajustement osmotique qui consiste à l'accumulation des solutés s'avère l'une des plus importantes (Ashraf et Foolad, 2007, Yousifi *et al.*, 2010). Elle facilite l'extraction de l'eau du sol, et le maintien de la turgescence cellulaire et les échanges gazeux lors d'un déficit hydrique (Kusaka *et al.*, 2005; Gonzalez *et al.*, 2010). Parmi ces osmolytes, les sucres solubles, les acides aminés libres sont les plus remarquables chez les plantes (Chaves *et al.*, 2003; Ben Ahmed *et al.*, 2009). Il a été observé une augmentation de leurs quantités chez de nombreuses espèces notamment chez *Ricinus communis* (Babita *et al.*, 2010), *Triticum durum* (Akhkha *et al.*, 2011), *Solanum tuberosum* (Farhad *et al.*, 2011) et chez *Pyracantha fortuneana* et *Rosa cymosa* (Liu *et al.*, 2011) en réponse au stress hydrique. En plus de leur rôle dans l'ajustement osmotique, ces solutés assurent la protection des

membranes cellulaires et la stabilisation de la structure et l'activité des protéines et celles des enzymes (Villadsen *et al.*, 2005; Hessini *et al.*, 2009).

Tab. 6. Analyse de variance (test Anova à un facteur, 5%) des différents paramètres physiologiques : Pn, gs, ETR, Φ PSII, Φ CO₂, qP et Fv/Fm entre les deux provenances, au moment de la résilience des plantules.

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>Sign.</i>		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>Sign.</i>
Pn				Fv/Fm			
Station	2.354	0.1472	n.s	Station	1.4818	0.2436	n.s
Residuals				Residuals			
gs				ETR			
Station	0.4111	0.5318	n.s	Station	4.9116	0.04375	*
Residuals				Residuals			
ΦPSII				ΦCO₂			
Station	4.8437	0.04503	*	Station	2.8088	0.1159	n.s
Residuals				Residuals			
qP							
Station	6.3748	0.02427	*				
Residuals							

Conclusion

Le stress hydrique affecte aussi bien les échanges gazeux que la phase claire de la photosynthèse chez les plantules du pistachier de l'Atlas. L'adaptation à la déshydratation se fait essentiellement par la fermeture stomatique qui est en grande partie à l'origine de la baisse des taux de la photosynthèse. La plus grande résistance à la sécheresse chez les plantules de la station de Béchar, comparées à celles en provenance de la station la moins aride (Médéa) suggère que ces mécanismes ainsi développés ont une origine génétique. La résilience de ces plantules après les premiers arrosages prévoit la régénération de l'espèce et son maintien dans l'avenir avec les réchauffements climatiques.

3. Inter-Population Variability of Terpenoid Composition in Leaves of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria: A Chemoecological Approach

Cet article est publié dans la revue Molecules

Authors: Samir Ait Said ^{1,2}, Catherine Fernandez ², Stéphane Greff ², Franck Torre ³, Arezki Derridj ¹, Thierry Gauquelin ² and Jean-Philippe Mevy ^{2,*}

¹ Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud MAMMERI BP 17 Tizi-Ouzou, Algeria.

² Institut Méditerranéen d'Ecologie et Paléoécologie (IMEP), UMR CNRS 6116, Equipe Diversité Fonctionnelle des Communautés Végétales, Aix-Marseille Université, Centre Saint Charles. 3, place Victor Hugo. 13331, Marseille Cedex 3, France.

³ Institut Méditerranéen d'Ecologie et Paléoécologie (IMEP), UMR CNRS 6116, Equipe Population, Communauté, Paysage. Case 461, 13397, Aix-Marseille Université, Marseille Cedex 20, France.

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: jean-philippe.mevy@univ-provence.fr; Tel.: +33-04-13-55-07-66; Fax: +33-04-13-55-11-51

Received: 22 February 2011 / in revised form: 17 March 2011 / Accepted: 18 March 2011 / Published: 22 March 2011

Résumé - L'étude de la variabilité de la composition terpénique contenue dans les feuilles de *P. lentiscus* a été réalisée dans trois sites choisis, le long d'un gradient d'altitude croissante. Les analyses réalisées au CG-MS révèlent que les contenues en terpène varient en fonction de l'altitude. 49 composés sont identifiés avec une grande variabilité inter populationnelle dans les sites de faible et moyenne altitudes et qui montrent les mêmes composés majoritaires lorsqu'ils sont exprimés en poids de matière sèche. Cependant, l'ANOVA à deux facteurs suivie d'un test post hoc de Turkey révèle que les monoterpènes hydrocarbonés augmentent avec l'altitude : 21.7, 37.5 et 221.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS sont enregistrées dans les stations de faible, moyenne et en haute altitude, respectivement.

D'autre part, en se basant sur des données exprimés en pourcentage des chromatogrammes des composés volatils, l'A.C.P. met en évidence 3 chémotypes associés aux niveaux d'altitude. Les composés majoritaires sont β -caryophyllène (12 %), δ -cadinène (9.3 %) et α -pinène (6.3 %) dans le site le plus élevé (Groupe I) et β -caryophyllène (11.5 %), δ -cadinène (8.6 %) et caryophyllène oxide (6.8 %) dans le site à moyenne altitude (Groupe II). Dans le site à faible altitude (Groupe III), δ -cadinène (10.9 %), cubebol (10.5 %) et β -bisabolène (7.7 %) sont majoritairement présents. Ainsi, l'implication des facteurs génétique et environnemental dans le polymorphisme chimique de cette espèce associé à l'altitude sont évoqués dans ce travail.

Mots-clés : *Pistacia lentiscus*, terpènes, altitude, Algérie, α -pinène, β -caryophyllène, caryophyllène oxide, cubebol, β -bisabolène, variabilité.

Abstract - Three different altitudes were selected to study the variability of terpenoid composition from leaves of female plants of *Pistacia lentiscus* L. throughout the elevation gradient. GC-MS analyses showed that terpenoid contents change with altitude. Forty nine compounds were identified with a high interpopulation variability for low- and midaltitude sites that also exhibited the same major components when data were expressed on dry weight basis. However, Two-Way-ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test showed that monoterpene hydrocarbons increased with elevation, giving values of 21.7, 37.5 and 221.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw for low- mid- and highlands, respectively. On the other hand, applying P.C.A. with data expressed in percentage of the chromatogram of the volatile extract led to the identification of three chemotypes associated with altitudinal levels. In highlands (Group I), the major compounds were β -caryophyllene (12%), δ -cadinene (9.3%) and α -pinene (6.3%) while in midlands (Group II), β -caryophyllene (11.5%), δ -cadinene (8.6%) and caryophyllene oxide (6.8%) were the main components. In lowlands (Group III) δ -cadinene (10.9%), cubebol (10.5%) and β -bisabolene (7.7%) were chiefly present. Hence, the involvement of genetic factors, temperature and drought in the chemical polymorphism of *P. lentiscus* associated with elevation is discussed in this report.

Keywords: *Pistacia lentiscus*; terpenes; altitude; Algeria; α -pinene; β -caryophyllene; caryophyllene oxide; cubebol; β -bisabolene; variability.

3.1. Introduction

Biosynthesis of secondary metabolites is not only controlled genetically, but it is also strongly affected by different biotic and abiotic stresses (Naghdi Badi *et al.*, 2004). Among plant secondary metabolites, terpenoids are the most abundant and structurally diverse group (Yu and Utsumi, 2009).

Altitude is one of the abiotic stresses associated with alterations in a number of environmental factors such as air temperature, precipitation, wind exposure, light intensity, UV-B radiation, ozone density and oxidizing air pollutants (Kofidis *et al.*, 2003). The effect of the altitudinal gradient on essential oil content from many species has been evaluated by several authors (Tkachev *et al.*, 2006; Agnihotri *et al.*, 2005).

Pistacia lentiscus L. (Anacardiaceae) is a sclerophyllous dioecious shrub which forms bushes of up to 2 m height, sometimes attaining a tree growth form in more humid and protected sites (Munne-Bosch and Penuelas, 2003). It is a low altitude species (Castro-Diez *et al.*, 1998), which has been found to be one of the more drought tolerant plants among other evergreen species (Ozturk *et al.*, 2010) and to be very tolerant to salinity (Barazani and Golan-Goldhirsh, 2009). This species is very common in the Mediterranean Basin (Verdú and Garcia-Fayos, 2002). In Algeria, *P. lentiscus* is dispersed along the entire littoral (Charef *et al.*, 2008) and grows in diverse habitats along a climatic gradient that varies in solar radiation, temperature, and precipitation.

P. lentiscus is extensively used in folk medicine (Janakat and Al-Merie, 2002), and the pharmaceutical and antimicrobial activity of this species has been reported by several authors (Benhammou *et al.*, 2008; Atmani *et al.*, 2009). The Anacardiaceae is a family that secrete substances containing terpenes and carbohydrates in ducts which are found in vascular rays, especially from the genus *Pistacia* (Fahn, 1979). *P. lentiscus* is recognized as a terpene-

storing species which produces the largest number of individual terpenes (Llusià and Peñuelas, 1998).

Numerous essential oil studies have been conducted on *P. lentiscus* leaves from different provenances (Zrira *et al.*, 2003; Duru *et al.*, 2003; Barra *et al.*, 2007; Gardeli *et al.*, 2008; Fernandez *et al.*, 2000) but, neither the plant sex, which is an additional source of variability (Tzakou *et al.*, 2007) nor the ecological conditions of plant growth were taken into account. Because of the differential volatility of terpenes, this prompted us to study the variability of terpenoid content of female *P. lentiscus* with increasing altitude. The result of this work will allow us to further understand the ecology of the plant in a constrained environment given its importance in reforestation programs in semi-arid Mediterranean Regions.

3.2. Results and Discussion

The leaves of *P. lentiscus* contain 49 identified compounds, which are listed in **Tab. 7**. Among these, twelve are monoterpenes (eight hydrocarbons, two oxygenated and two derivatives) and thirty seven are sesquiterpenes (25 hydrocarbons and 12 oxygenated).

For a given altitude level five populations were selected, each of them exhibiting a low intra-population variability regarding the individual components identified. However for low and mid-altitudes inter-population variability increases. For instance β -elemene content in lowlands plants ranged from 2.5–34.9 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw. This raises the complexity of the identification of molecular markers that discriminate ecological gradients. Taking into account such variability the main compounds found in low altitude sites were: δ -cadinene (50–112 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw), β -caryophyllene (54–92 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw) and cubebol (15–112 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw). Mid-altitude site samples contained similar main components: δ -cadinene (59–176 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw), β -caryophyllene (71–146 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw) and cubebol (17–117 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw). However, in high altitude site, β -caryophyllene (156–186 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw), δ -cadinene (83–153 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw) and α -pinene (76–105 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw) were the dominant components. Hence, the three altitudinal levels were qualitatively similar except for the high content of α -pinene found in highlands specimens. When considering the amount of the different families of terpenic constituents, Two-Way-ANOVA showed that there is no significant effect of the interaction between site and station for monoterpene hydrocarbons (**Tab. 8**). The subsequent One-Way-ANOVA carried out followed by a Tukey's post hoc test showed that monoterpene hydrocarbons found in low (21.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw), mid- (37.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw) and highlands (221.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw) were significantly different ($F = 742.22$; $p < 0.001$). Thus, we may conclude that monoterpene hydrocarbons significantly increase with altitude. The high richness of terpenes content found in leaves of *P. lentiscus* of the high elevated site is in accordance with several authors who have stated that altitude is a factor influencing plant chemistry (Haider *et al.*, 2009, Vokou *et al.*, 1993). Enhanced UV-B radiation and lower temperatures at high altitudes have been exhaustively discussed as having an impact on flavonoid and monoterpene hydrocarbon contents (Bilger *et al.*, 2007).

Tab. 7. Concentration of terpenoids ($\mu\text{g g}^{-1}$ dw) found in female *Pistacia lentiscus* L. leaves from low, mid and high altitude sites in Algeria.

Compounds	Mean concentration $\pm$ standard deviation of terpenoid contents in leaves extracts of <i>Pistacia lentiscus</i> ($\mu\text{g g dw}^{-1}$)															
	RI	Low altitude					Mid altitude					High altitude				
		L1(n = 5)	L2(n = 5)	L3(n = 5)	L4(n = 5)	L5(n = 5)	M1(n = 5)	M2(n = 5)	M3(n = 5)	M4(n = 5)	M5(n = 5)	H1(n = 5)	H2(n = 5)	H3(n = 5)	H4(n = 5)	H5(n = 5)
α -thujene	926	4.8 $\pm$ 1.6	3.8 $\pm$ 1.3	1.1 $\pm$ 0.9	1.4 $\pm$ 0.9	4.6 $\pm$ 1.5	8.2 $\pm$ 1.1	8.1 $\pm$ 0.4	4.5 $\pm$ 0.9	3.4 $\pm$ 0.5	6.5 $\pm$ 1.2	13.6 $\pm$ 0.7	15.2 $\pm$ 0.7	12.5 $\pm$ 1.5	15.1 $\pm$ 0.7	16.9 $\pm$ 0.5
α -pinene	933	8.1 $\pm$ 3.3	7.6 $\pm$ 3.0	2.9 $\pm$ 1.1	2.7 $\pm$ 0.9	5.5 $\pm$ 1.2	2.2 $\pm$ 0.2	5.7 $\pm$ 0.9	5.2 $\pm$ 0.8	1.9 $\pm$ 0.3	13.5 $\pm$ 2.0	102.9$\pm$6.2	100.9$\pm$3.6	76.3$\pm$14.2	105.0$\pm$4.5	98.0$\pm$0.5
camphene	947	0.6 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.2	0.3 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1	0.9 $\pm$ 0.2	3.0 $\pm$ 1.1	1.1 $\pm$ 0.5	0.9 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.7	14.3 $\pm$ 1.3	17.1 $\pm$ 1.8	12.8 $\pm$ 3.4	15.9 $\pm$ 2.1	20.3 $\pm$ 0.6
β -pinene	973	12.2 $\pm$ 4.3	10.9 $\pm$ 3.8	3.0 $\pm$ 1.5	3.3 $\pm$ 1.5	7.9 $\pm$ 2.3	11.5 $\pm$ 1.3	12.1 $\pm$ 1.8	11.4 $\pm$ 3.0	4.5 $\pm$ 0.4	14.5 $\pm$ 2.2	35.3 $\pm$ 7.4	36.7 $\pm$ 7.1	56.2 $\pm$ 14.9	44.3 $\pm$ 8.8	30.9 $\pm$ 0.6
α -terpinene	1018	2.0 $\pm$ 0.9	1.9 $\pm$ 0.7	0.1 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.6	7.3 $\pm$ 0.7	6.2 $\pm$ 1.4	2.9 $\pm$ 1.1	1.3 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.4	7.9 $\pm$ 0.6	9.3 $\pm$ 0.5	8.5 $\pm$ 1.4	9.5 $\pm$ 0.4	10.5 $\pm$ 0.4
p-cymene	1027	0.9 $\pm$ 0.4	0.9 $\pm$ 0.4	0.4 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.4	3.5 $\pm$ 0.9	1.4 $\pm$ 0.5	0.7 $\pm$ 0.3	1.6 $\pm$ 0.6	15.7 $\pm$ 0.7	17.7 $\pm$ 0.5	21.3 $\pm$ 4.8	18.5 $\pm$ 0.5	18.8 $\pm$ 0.4
limonene	1029	2.3 $\pm$ 0.2	2.3 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.0	1.5 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.1	5.8 $\pm$ 0.5	5.7 $\pm$ 1.6	2.9 $\pm$ 0.9	2.4 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.4	11.5 $\pm$ 2.6	13.6 $\pm$ 2.2	32.6 $\pm$ 12.3	16.3 $\pm$ 2.7	12.7 $\pm$ 0.3
γ -terpinene	1062	2.1 $\pm$ 0.6	1.7 $\pm$ 0.6	0.5 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.4	2.0 $\pm$ 0.6	4.7 $\pm$ 0.4	5.6 $\pm$ 1.0	2.5 $\pm$ 0.8	1.4 $\pm$ 0.3	2.4 $\pm$ 0.4	7.2 $\pm$ 0.6	8.9 $\pm$ 0.7	7.7 $\pm$ 0.9	8.8 $\pm$ 0.7	10.5 $\pm$ 0.4
terpinen-4-ol	1179	5.1 $\pm$ 1.2	4.0 $\pm$ 0.7	3.5 $\pm$ 0.6	2.4 $\pm$ 0.1	3.1 $\pm$ 0.4	5.9 $\pm$ 0.8	7.0 $\pm$ 1.3	4.6 $\pm$ 0.9	4.1 $\pm$ 0.4	6.3 $\pm$ 0.6	27.4 $\pm$ 0.6	29.6 $\pm$ 0.4	42.5 $\pm$ 7.8	30.3 $\pm$ 0.4	30.5 $\pm$ 0.4
α -terpineol	1197	2.4 $\pm$ 0.6	1.6 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.3	3.5 $\pm$ 1.0	2.0 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.3	2.0 $\pm$ 0.7	5.1 $\pm$ 0.8	7.5 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 1.1	8.4 $\pm$ 0.6	8.2 $\pm$ 0.4
borneol acetate	1287	6.8 $\pm$ 1.9	5.6 $\pm$ 1.5	3.9 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.2	3.2 $\pm$ 0.4	7.3 $\pm$ 0.8	6.5 $\pm$ 1.1	6.3 $\pm$ 1.5	6.9 $\pm$ 0.7	18.7 $\pm$ 6.2	18.6 $\pm$ 0.7	22.3 $\pm$ 0.5	25.8 $\pm$ 6.9	22.4 $\pm$ 0.5	23.6 $\pm$ 0.4
α -terpineol acetate*	1351	4.4 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.6	10.3 $\pm$ 1.0	8.8 $\pm$ 0.5	8.9 $\pm$ 2.9	17.7 $\pm$ 2.3	10.4 $\pm$ 1.5	5.2 $\pm$ 1.4	7.9 $\pm$ 0.4	14.1 $\pm$ 3.8	15.3 $\pm$ 0.3	16.5 $\pm$ 0.2	11.7 $\pm$ 1.5	16.7 $\pm$ 0.2	17.2 $\pm$ 0.2
δ -elemene*	1338	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.3	2.8 $\pm$ 0.9	0.7 $\pm$ 0.4	1.7 $\pm$ 0.3	7.0 $\pm$ 3.1	0.4 $\pm$ 0.2	2.6 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.9	2.7 $\pm$ 0.4	3.9 $\pm$ 0.4
α -cubebene*	1351	4.4 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.6	10.3 $\pm$ 1.0	8.8 $\pm$ 0.5	8.9 $\pm$ 2.9	17.7 $\pm$ 2.3	10.4 $\pm$ 1.5	5.2 $\pm$ 1.4	7.9 $\pm$ 0.4	14.1 $\pm$ 3.8	15.3 $\pm$ 0.3	16.5 $\pm$ 0.2	11.7 $\pm$ 1.5	16.7 $\pm$ 0.2	17.2 $\pm$ 0.2
α -copaene	1377	7.5 $\pm$ 1.3	8.3 $\pm$ 1.0	10.4 $\pm$ 1.1	8.5 $\pm$ 0.6	13.7 $\pm$ 3.1	22.9 $\pm$ 3.7	10.9 $\pm$ 0.8	9.4 $\pm$ 0.3	8.8 $\pm$ 0.5	13.9 $\pm$ 1.0	34.8 $\pm$ 2.4	38.3 $\pm$ 1.5	23.2 $\pm$ 4.7	40.3 $\pm$ 1.9	37.8 $\pm$ 0.4
β -bourbonene*	1389	1.7 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.3	3.0 $\pm$ 0.9	1.3 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.3	5.1 $\pm$ 1.2	7.2 $\pm$ 0.9	9.9 $\pm$ 1.3	2.4 $\pm$ 0.3	6.0 $\pm$ 1.2	12.2 $\pm$ 0.4
β -cubebene*	1391	3.9 $\pm$ 0.5	3.3 $\pm$ 0.5	14.2 $\pm$ 1.0	13.8 $\pm$ 1.3	32.5 $\pm$ 8.7	21.0 $\pm$ 3.6	10.4 $\pm$ 2.0	4.5 $\pm$ 1.1	11.0 $\pm$ 0.9	5.7 $\pm$ 1.1	13.2 $\pm$ 0.6	16.4 $\pm$ 0.5	9.6 $\pm$ 2.0	16.7 $\pm$ 0.4	17.7 $\pm$ 0.4
β -elemene*	1393	34.9 $\pm$ 0.9	34.4 $\pm$ 0.4	3.1 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.3	3.4 $\pm$ 0.5	4.4 $\pm$ 0.7	5.5 $\pm$ 0.5	3.9 $\pm$ 0.6	3.5 $\pm$ 0.3	7.3 $\pm$ 0.6	4.5 $\pm$ 1.2	6.9 $\pm$ 0.8	6.7 $\pm$ 1.8	8.2 $\pm$ 1.0	7.2 $\pm$ 0.4
β -caryophyllene	1422	92.7 $\pm$ 18.5	78.4 $\pm$ 16.4	71.4 $\pm$ 6.8	54.3 $\pm$ 2.7	57.2 $\pm$ 4.7	95.5 $\pm$ 6.6	71.4 $\pm$ 2.9	80.3 $\pm$ 14.9	82.8 $\pm$ 9.0	146.8 $\pm$ 10.8	178.2 $\pm$ 14.9	186.3 $\pm$ 11.7	156.4 $\pm$ 30.1	198.5 $\pm$ 14.3	175.6 $\pm$ 0.4

Chapitre 3. Résultats et Discussions

β -copaene*	1431	6.6±0.6	6.2±0.5	6.0±0.5	5.0±0.2	17.3±11.6	10.4±1.5	7.6±0.8	5.9±0.6	7.1±1.0	9.4±1.0	14.7±4.5	17.2±3.9	13.2±2.4	21.6±4.9	14.3±0.4
γ -elemene*	1440	0.5±0.1	0.4±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.4±0.1	1.7±0.3	3.4±1.1	1.0±0.5	0.7±0.3	0.8±0.3	2.3±0.2	4.4±0.6	2.4±0.4	4.4±0.6	5.9±0.4
<i>trans</i> -muurola-3,5-diene*	1451	2.2±0.6	3.3±0.7	6.4±0.8	5.9±0.8	4.4±0.9	7.4±1.0	8.3±1.6	3.6±0.8	4.9±0.2	5.3±1.0	2.9±0.6	4.4±0.9	2.8±0.4	3.8±1.1	6.3±0.3
α -humulene	1457	20.9±2.6	19.3±3.0	20.5±1.7	16.3±0.7	19.4±1.8	35.6±4.9	19.1±0.7	18.6±2.1	23.9±1.8	30.8±1.6	28.4±6.6	33.3±7.6	29.0±5.6	26.2±9.3	42.0±0.4
allo-aromadendrene*	1462	6.4±0.5	5.6±0.7	7.6±0.7	6.1±0.3	8.0±0.9	17.5±2.6	9.2±1.2	5.9±0.8	7.5±0.4	9.3±0.9	15.8±3.2	18.7±2.6	10.2±2.2	21.8±3.3	17.1±0.4
<i>cis</i> -muurola-4(14),5-diene*	1465	3.8±0.3	3.6±0.3	3.7±0.3	3.5±0.7	3.9±0.6	5.9±0.9	5.3±0.7	3.5±0.3	4.6±0.4	5.4±0.6	7.0±2.4	9.7±1.8	6.6±1.1	12.0±2.3	8.8±0.4
<i>trans</i> -cadina-1(6),4-diene*	1476	2.7±0.3	2.8±0.5	6.8±0.5	5.0±0.3	5.5±0.6	3.8±0.7	5.9±1.3	3.2±0.7	5.0±0.6	3.2±0.7	12.4±1.2	15.4±0.6	5.7±1.3	16.4±0.7	15.9±0.4
γ -muurolene*	1479	32.5±1.8	29.7±3.1	37.3±1.9	30.8±1.0	34.7±4.0	62.5±6.7	36.7±1.9	28.6±2.4	29.9±2.9	37.7±2.4	59.7±5.4	62.6±4.4	40.7±5.9	67.3±5.4	58.9±0.2
germacrene D*	1484	23.5±3.3	21.5±2.0	16.4±0.8	13.9±0.5	14.1±0.8	19.0±1.1	19.3±2.4	19.0±2.4	24.3±6.8	37.6±5.0	33.7±14.7	36.9±13.9	44.6±9.3	51.4±17.1	24.0±0.4
β -selinene*	1489	7.5±0.8	7.1±0.5	5.7±0.7	5.4±0.2	8.4±0.8	10.7±1.2	8.9±0.7	6.1±0.6	6.0±0.3	9.7±1.1	8.7±2.6	11.3±2.1	10.0±1.6	13.8±2.6	10.2±0.4
<i>trans</i> -muurola-1(14),5-diene*	1494	5.5±0.4	5.8±0.9	13.6±0.8	10.6±0.5	13.1±0.9	14.7±2.9	6.8±0.5	4.7±0.2	10.5±0.8	7.6±1.0	15.3±1.4	18.3±0.8	9.7±2.1	19.5±0.9	18.6±0.4
α -muurolene*	1503	16.1±1.6	17.1±2.3	27.6±2.3	21.9±1.4	25.7±2.9	46.8±5.9	24.7±1.9	16.4±2.5	26.1±1.2	24.3±2.1	42.9±5.2	55.7±0.9	24.6±5.2	57.1±1.1	55.9±0.4
β -bisabolene*	1510	22.1±2.3	21.6±2.5	81.9±5.4	62.5±5.3	74.3±8.2	105.0±19.9	38.5±9.2	21.4±2.3	63.6±4.0	36.6±4.8	55.3±5.9	60.0±4.5	42.7±8.6	65.1±5.6	56.5±0.4
γ -cadinene*	1517	15.7±1.2	15.3±1.0	12.6±1.3	11.7±0.8	23.7±9.9	32.8±2.9	35.4±8.0	20.2±6.6	15.3±0.7	20.5±2.0	24.9±8.3	27.0±7.9	19.9±3.4	35.4±9.7	20.2±0.4
δ -cadinene*	1528	60.3±5.5	59.0±9.3	112.5±9.5	83.3±3.8	98.4±9.1	176.2±19.6	88.4±8.5	59.7±10.7	98.6±4.8	83.9±8.0	143.6±19.0	153.9±16.3	87.4±18.2	170.7±20.0	138.6±0.4
cadina-1,4-diene*	1535	7.1±0.8	5.4±0.6	6.3±0.5	6.1±0.6	9.8±1.2	11.2±0.5	10.4±2.0	5.2±1.6	5.0±0.5	3.9±2.3	7.1±0.5	8.4±0.4	7.1±0.5	8.8±0.3	9.5±0.4
α -cadinene*	1541	4.9±0.4	4.1±0.3	14.1±0.4	13.1±0.1	5.1±0.5	10.4±1.7	14.6±4.0	7.0±3.0	5.1±0.5	5.4±0.8	6.6±1.6	8.2±1.3	5.0±0.8	10.0±1.6	8.0±0.4
α -calacorene*	1546	1.2±0.1	1.2±0.0	1.2±0.1	1.3±0.0	1.3±0.1	7.9±0.5	8.2±0.4	8.7±0.8	3.5±0.4	4.1±0.2	1.7±0.2	1.3±0.0	1.2±0.1	1.3±0.0	1.3±0.1
cubebol*	1520	15.8±3.5	15.5±3.0	112.9±12.0	75.5±20.6	108.9±16.4	117.6±21.7	60.3±27.8	17.9±4.9	71.4±5.0	36.6±7.8	57.8±2.5	62.3±1.6	42.4±9.3	61.3±1.8	64.8±0.4
elemol*	1553	8.7±2.0	8.4±1.4	7.5±1.2	6.3±1.0	9.4±1.8	6.7±0.7	10.3±1.5	5.9±1.2	7.8±0.3	11.5±0.8	9.6±1.5	13.1±0.7	9.6±1.9	14.3±0.9	13.5±0.4
germacrene D-4-ol*	1584	1.2±0.0	1.2±0.0	1.1±0.1	1.2±0.1	1.1±0.1	1.8±0.3	3.6±1.0	1.6±0.4	1.1±0.1	1.0±0.3	1.1±0.0	1.1±0.1	1.2±0.0	1.1±0.1	1.6±0.1

Chapitre 3. Résultats et Discussions

spathulenol*	1584	13.0±2.8	11.8±2.2	9.7±1.1	11.9±0.5	18.5±4.4	10.1±0.9	13.2±1.6	10.8±2.6	7.6±0.7	40.6±18.0	13.1±1.2	26.7±11.0	22.4±3.6	28.0±10.7	38.2±13.5
caryophyllene oxide	1587	56.0±18.3	52.0±15.9	53.0±8.6	45.6±6.4	67.7±11.6	54.8±2.2	53.3±2.1	55.1±14.3	48.1±1.7	71.8±6.6	58.6±2.6	70.4±10.2	49.1±9.0	67.9±11.0	83.6±10.9
gleenol*	1588	1.2±0.0	1.2±0.0	1.1±0.1	1.2±0.1	1.1±0.1	9.8±0.3	11.7±1.0	3.2±2.0	1.1±0.1	11.2±4.1	1.1±0.0	1.1±0.1	1.2±0.0	1.1±0.1	1.6±0.1
humulene oxide II	1613	12.3±2.0	11.5±1.7	16.8±1.9	15.2±1.5	24.3±3.0	22.6±3.2	13.5±1.2	11.1±1.5	16.0±1.2	14.7±1.5	17.6±2.4	21.3±2.3	12.7±2.6	23.7±2.2	22.4±2.1
1-epi-cubenol*	1632	6.0±3.3	5.9±2.9	16.3±1.3	12.3±1.3	10.4±0.9	14.1±2.2	10.9±1.7	6.8±2.4	12.5±1.8	11.6±2.5	9.9±0.8	12.4±0.5	4.0±1.1	13.0±0.4	13.4±0.5
α-muurolol*	1648	11.5±2.3	11.7±2.1	26.9±1.5	23.0±1.6	20.3±5.1	19.0±2.5	14.8±1.2	10.4±2.1	21.6±1.2	12.3±2.4	15.9±3.6	21.3±3.8	13.8±2.8	24.7±3.8	22.2±3.8
α-cadinol*	1661	15.1±2.8	17.4±1.9	22.7±0.8	21.4±1.0	24.6±1.3	21.0±1.4	29.6±0.9	18.2±3.2	24.8±0.7	19.5±2.8	17.9±5.6	24.0±5.7	18.6±2.3	29.4±5.9	23.9±5.0
α-bisabolol*	1688	9.9±0.6	9.8±0.5	10.7±0.5	10.3±0.4	10.3±0.5	32.8±0.9	34.0±2.0	15.5±5.8	27.3±0.8	15.1±6.9	4.4±0.3	5.8±0.4	5.8±0.5	7.6±0.6	7.2±0.2
eudesma-4(15),7-dien-1-beta-ol*	1696	10.5±2.9	6.9±0.7	22.8±2.6	19.5±1.5	27.5±3.4	26.0±0.5	35.3±2.5	21.3±3.1	11.3±3.4	27.5±2.1	8.8±1.0	11.9±1.1	7.5±1.1	11.4±1.2	13.8±0.5
Total monoterpenes			39±3.9					65±5.0						299±6.8		
Total monoterpene hydrocarbons			21.7±3.4					37.5±3.2						221.5±5.3		
Total oxygenated monoterpenes			16.8±1.9					27.8±2.4						77.1±2.5		
Total sesquiterpenes			799±38.0					956±48.6						1181±55.0		
Total sesquiterpene hydrocarbons			422.18±18.0					509.1±32.4						762.5±37.1		
Total oxygenated sesquiterpenes			377.2±22.7					446.9±20.7						418.9±23.3		
Total terpenes			838±39.0					1021±51.6						1480±57.7		

RI: Retention Index; NI: Non Identified. ; * : tentatively identified.

Tab. 8. Variance analysis (Two-Way Anova test, 5%) of monoterpenes (hydrocarbons and oxygenated), sesquiterpenes (hydrocarbons and oxygenated) and total terpenes between sites, stations and interaction site vs station .

Terpenoids	factors	df	SS	MS	F	P
<i>Monoterpene hydrocarbons</i>	Site	2	617137	308569	479.144	< 0.001
	Site:Station	12	7725	644	1.754	0.08
	Residuals	60	22007	367		
<i>Oxygenated monoterpenes</i>	Site	2	51551	25775.3	108.802	< 0.001
	Site:Station	12	2843	236.9	2.823	0.004
	Residuals	60	5037	83.9		
<i>Sesquiterpene hydrocarbons</i>	Site	2	1563493	781746	11.700	0.001
	Site:Station	12	801748	66812	4.718	< 0.001
	Residuals	60	849581	14160		
<i>Oxygenated sesquiterpenes</i>	Site	2	61397	30698	0.688	0.52
	Site:Station	12	535103	44592	7.484	< 0.001
	Residuals	60	357500	5958		
<i>Total terpenes</i>	Site	2	5470660	2735330	13.782	< 0.001
	Site:Station	12	2381658	1984472	5.601	< 0.001
	Residuals	60	2126026	35434		

Because the individual oil components, expressed on dw basis (w/w) could not clearly discriminate between the three altitude levels, data were expressed in terms of percentage of the chromatogram prior to Principal Component Analysis (P.C.A.) **Fig. 38** represents two-dimensional mapping of the P.C.A., Axis 1 and Axis 2 represent 43% and 18% of the information, respectively.

The distribution of individual points in plan 1-2 based on cluster analysis (Ward's technique) divided the 75 accessions into three main groups according to their content (expressed in % because of maximum of variability) in α -pinene, caryophyllene oxide and cubebol. The group I (33.3% of total samples) includes individuals harvested from the high elevated sites which are characterized by a high content in β -caryophyllene (12.0%), δ -cadinene (9.3%) and α -pinene (6.8%). Among monoterpenes which characterize this group, camphene, p-cymene, β -pinene, terpinen-4-ol are also the most discriminating compounds.

The groups II and III are dominated by individuals harvested from low and mid-altitude sites, respectively. The chemical composition of group II (37.3% of samples) was characterized by high contents of β -caryophyllene (11.5%), δ -cadinene (8.6%) and caryophyllene oxide (6.8%). The last group (26.4% of samples) contains mainly individuals of low altitude sites with δ -cadinene (10.9%), cubebol (10.5%) and β -bisabolene (7.7%) as discriminating components.

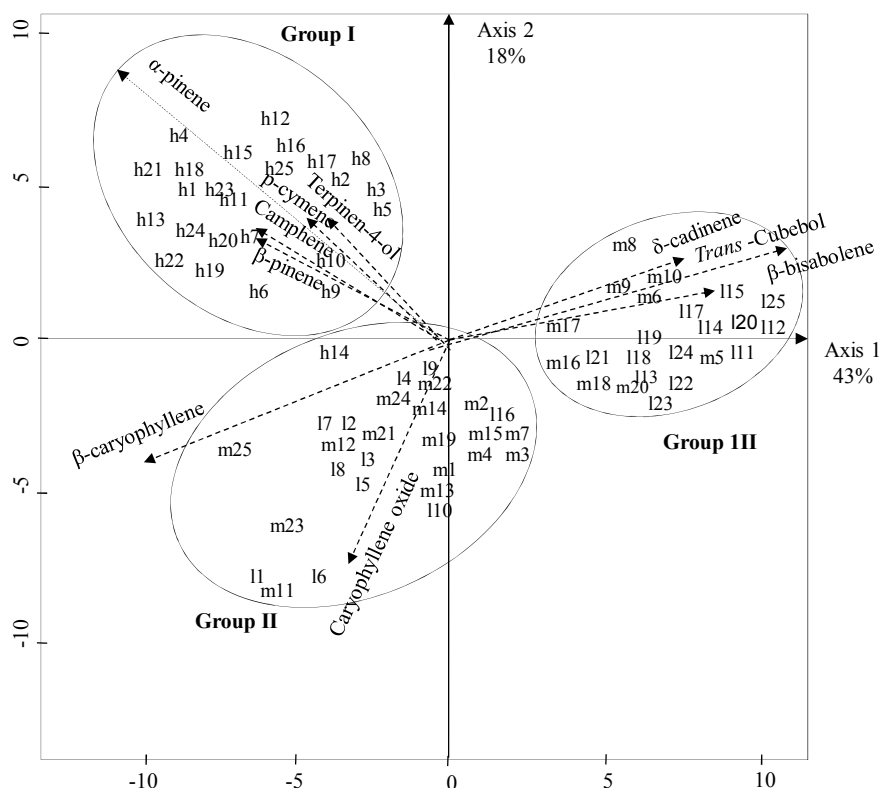


Fig. 38. Two-dimensional mapping of the P.C.A. analysis of *Pistacia lentiscus* L. individual distribution from low, mid and high altitude sites in Algeria (l: low; m: medium and h: high altitude sites).

Samples of Groups I and II were similar to Sardinian (Costa Rey) chemotype where β -caryophyllene (31.38%), germacrene D (12.08%) and δ -cadinene (6.48%) were identified as the dominant compounds from supercritical CO_2 leaves extracts (Congiu *et al.*, 2002). However the composition of the hydrodistillates were totally different. The chemical variability of *P. lentiscus* essential oil obtained through hydrodistillation from samples harvested at Tigzirt (Algeria) was reported as α -pinene (22–29%), myrcene (1.4–23%) and sabinene (8–11.7%) were the major constituents (Mecherara-Idjeri *et al.*, 2008). In our samples from Tigzirt (see Table 1: L3) myrcene and sabinene were not detected. This disagreement with our data is probably the result of thermal hydrolysis that occurs during hydrodistillation, as suggested earlier (Congiu *et al.*, 2002). Consequently, it is likely that cold extraction leads to the recovery of the true components in plants. That said, axis 1 clearly separates Groups I and III while axis 2 distinguishes Group I from Group II. This raises the question of the characterization of the ecological factors involved. A careful analysis of our sampling sites (**Tab. 1A**) revealed that lowlands habitats were highly heterogeneous in terms of specific composition. All the highland habitats were composed by *Olea europaea* plant association. Taking into account the other ecological data collected, the mean maximum temperature in highlands (about 27 °C) was lower than that of the lowlands (31 °C) suggesting that, axis 1 determines temperatures decrease. Because most of lowlands were located near the sea, it is not excluded that other factors such as substrate type and soil salinity may be particularly discriminating factors. On the other hand axis 2 can be interpreted as the

result of abiotic factors associated with drought since midlands exhibited a lower mean coefficient of Emberger ($Q_2 = 85$) compared to that of highlands ($Q_2 = 154$).

Among the identified components, α -pinene, camphene, β -pinene and p-cymene are the most discriminating monoterpene hydrocarbons of individuals from high altitude sites. The increase of these compounds with altitude regardless to the specific composition of the habitats may be explained by the involvement of genetic and/or abiotic factors. For instance camphene is found to be cytoprotective by decreasing lipid peroxidation and inhibiting NO release and ROS generation (Tiwari and Kakkar, 2009) whereas, p-cymene was reported to be positively correlated with aridity index and altitude from *Thymus piperella* (Hudaib and Aburjai, 2007).

Tab. 1A. Ecological factors of *Pistacia lentiscus* collection sites.

Sites	Stations	Alt. (m)	Geographical coordinates	Habitat	P (mm)	T ⁰ Max (C ⁰)	Q ₂
Low-altitude	Cherchel (L1)	15	36°36'N/2°11'E	<i>Phillyrea latifolia</i>	502.24±25.08	31.75±0.42	73.54
	Azzefoun (L2)	14	36°53'N/4°25'E	<i>Phillyrea latifolia</i>	775.78±50.04	31.50±0.48	122.06
	Zemmouri Bahri (L5)	9	36°48'N/3°35'E	<i>Erica arborea</i>	741.14±45.34	29.10±0.51	125.85
	Tigzirt (L3)	6	36°53'N/4°08'E	<i>Arbutus unedo</i>	923.09±67.98	30.30±0.44	150.77
	Ziama	8	36°39'N/5°28'E	<i>Erica arborea</i>	968.11±60.82	30.80±0.38	148.24
	Mansouriah (L4)						
Mid-altitude	Thenia (M1)	168	36°43'N/3°32'E	<i>Eucalyptus radiata</i>	728.53±58.43	35.00±0.37	88.61
	Beni Amrane (M4)	121	36°39'N/5°14'E	<i>Erica arborea</i>	729.58±55.22	35.50±0.38	87.50
	Tizi Ouzou (M5)	182	36°43'N/4°03'E	<i>Pinus halepensis</i>	731.92±57.42	36.10±0.41	83.68
	El Kseur (M3)	167	36°41'N/4°51'E	<i>Olea europaea</i>	758.39±59.33	30.80±0.35	112.12
	Lakhdaria (M2)	307	36°34'N/3°35'E	<i>Olea europaea</i>	513.85±54.14	35.60±0.39	55.25
High-altitude	Ait Khelifa (H3)	1042	36°31'N/4°20'E	<i>Olea europaea</i>	1039.30±56.57	23.20±0.32	168.95
	Tala Moumene (H4)	1008	36°33'N/4°48'E	<i>Olea europaea</i>	1041.27±67.45	24.46±0.35	190.18
	Beni Mendes (H1)	809	36°30'N/3°59'E	<i>Olea europaea</i>	924.56±64.54	31.75±0.38	112.74
	Aourir	868	36°34'N/4°48'E	<i>Olea europaea</i>	1019.62±69.33	25.44±0.31	182.15
	N'Athjelil (H2)						
	Tizi-Oumalou (H5)	942	36°30'N/4°20'E	<i>Olea europaea</i>	939.06±78.75	30.82±0.36	116.11

Data sources: Office Nationale de la Météorologie d'Alger (O.N.M.) and Agence Nationale des Ressources Hydriques d'Alger (A.N.R.H.). Period from 1997–2007.

3.3. Experimental

3.3.1. Plant material

Seventy five sample of *Pistacia lentiscus* were collected in September 2008 in three Algerian sites which are located at different altitudes. Five stations were chosen per site with five female individuals per station. The first site includes individuals harvested from low altitude,

the second one includes individuals located at mid-altitude and finally, we have collected individuals at the high altitude site in Kabylia. Ecological factors of the sampling sites are described in Table 3.

Sampling was carried out during fructification stage in order to take into account the phenological shift due to local climatic conditions. Twenty five female individuals were chosen per site. Mature and sun exposed leaves were harvested, dried in dark at ambient air temperature (25 °C) conditions until constant weight then, 100 g per tree were grounded and stored until use.

Specimens were deposited at the herbarium of the University of Provence (Marseille) and referred as PL1-MAR -2010, PL2-MAR-2010, PL3-MAR-2010 for Algerian low, mid and high altitude sites, respectively.

3.3.2. *Terpenoids extraction*

The extraction method used consisted of suspending leaf dry matter in dichloromethane according to a ratio of 1:2 (w/v), for 30 min, under constant shaking at room temperature. Dodecane (50 µL, 5 mg mL⁻¹) were added as internal standard for quantification.

3.3.3. *Quantitative and qualitative analysis of terpenoids*

Extracts were filtered on an Regenerated Cellulose syringe filter (RC, 0.45 µm, 25 mm, Phenomenex) then analyzed with a gas chromatograph (Hewlett Packard® GC 6890) coupled to a mass selective detector (5973 Network). The system was fitted with an HP-5MS capillary column (30 m, 0.25 mm, 0.25 µm). Extract (2 µL) was injected through an automatic injector (ALS 7683) in splitless mode. Purge was set at 50 min mL⁻¹ after 1 min. Injection temperature was maintained at 250 °C. Helium was used as carrier gas. A constant flow rate of 1 mL min⁻¹ was set throughout the run. The oven temperature initially set at 40 °C was increased to 270 °C at a rate of 4 °C min⁻¹ and remained constant for 5 min. The MSD transfer line heater was maintained at 280 °C. Terpenes were identified by comparison of their retention index (RI) and mass spectra (NIST, 2008) with those obtained from authentic samples and literature (Adams, 2007).

3.3.4. *Statistical analyses*

The data were analyzed by a two-way ANOVA model. Turkey's HSD (Honestly Significant Differences) procedure was used to test for significant differences in monoterpenes (hydrocarbons and oxygenated), sesquiterpenes (hydrocarbons and oxygenated) and total terpene concentrations between stations and sites. In order to evaluate the qualitative distribution of major chemical compounds (expressed in % of the chromatogram) in our 75 samples, Principal Component Analysis (P.C.A.) was carried out. The statistical analyses were performed using the R statistical software (R Development Core Team, 2009), packages "ade4" (Dray *et al.*, 2007) and "agricolae" (de Mendiburu, 2010).

3.4. Conclusions

Our investigation revealed a chemical diversity of *P. lentiscus* associated with the geographic location. Three chemotypes were identified according to the different elevation levels. This

variability may be interpreted as the result of biotic and abiotic factors, as well as genetic variability. The main discriminating environmental factors identified were temperature and drought. Consequently our finding should be further verified through analysis of terpenoids in seedlings of multiple provenance held under identical growth conditions.

4. Gender, Mediterranean habitats and seasonality: Linking PSII photochemistry patterns to some physiological data in *Pistacia lentiscus* L.

Article en cours de soumission dans la revue Journal of Experimental Botany

Authors : Samir Ait Said ^{1,2}, Jean-Philippe Mevy ^{2,*}, Catherine Fernandez ², Elena Ormeño ², Franck Torre ³, Arezki Derridj ¹ and Thierry Gauquelin ²

¹ Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud MAMMERI BP 17 Tizi-Ouzou, Algeria

² Institut Méditerranéen d'Ecologie et Paléoécologie (IMEP), UMR CNRS 6116, Equipe Diversité Fonctionnelle des Communautés Végétales, Aix-Marseille Université, Centre Saint Charles. 3, place Victor Hugo. 13331, Marseille Cedex 3, France

³ Institut Méditerranéen d'Ecologie et Paléoécologie (IMEP), UMR CNRS 6116, Equipe Population, Communauté, Paysage. case 461, 13397, Aix-Marseille Université, Marseille Cedex 20, France

To whom correspondence should be addressed; E-Mail: jean-philippe.mevy@univ-provence.fr; Tel.: +33-04-13-55-07-66; Fax: +33-04-13-55-11-51.

Résumé - La variabilité saisonnière de la réponse écophysio-logique d'une espèce dioïque *Pistacia lentiscus* L. a été conduite dans trois sites Méditerranéens très contrastés écologiquement: aride, semi-aride et au bord du littoral. Les résultats obtenus ont révélé la sensibilité de *P. lentiscus* aux faibles températures hivernales tels montré par valeurs de Fv/Fm inférieurs à 0.77. Cette photoinhibition qui affecte les deux sexes est plus marquée dans le site littoral (0.71). Ceci est accompagné par des teneurs les plus faibles en chlorophylles a (0.6.µg. g⁻¹. MF) comparé aux autres sites mais aussi par une faible efficacité de conversion de l'énergie par les antennes comme le suggère l'analyse des courbes de la réponse à la lumière. En printemps, le dimorphisme sexuel a été observé durant le stade de fructification, les arbres femelles montrent des valeurs du ratio Fv/Fm significativement plus élevées comparés aux individus mâles. A partir de ces résultats, nous suggérons que les demandes de carbone pour la fructification chez *P. lentiscus* impliquent une régulation des sources par les voies métaboliques. Durant l'été, la protection de l'appareil photosynthétique contre une photoinhibition chronique est justifiée par des valeurs élevées du ratio caroténoïdes/ chlorophylle essentiellement, dans les sites aride et salin. Les plants de *P. lentiscus* ne sont pas stressés durant l'automne mais la plus grande capacité à la résilience a été observée dans les sites arides en améliorant les mécanismes du quenching photochimique. Les comparaisons entre les variables ont révélé que le ratio Fv/Fm et la teneur totale en chlorophylle étaient significativement corrélés ce qui suggère une possible mise en relation entre les propriétés de fluorescence et de réflectance de la feuille et ce dans la perspective d'études de la fonction photosynthétique à l'échelle du paysage.

Mots-clés: *Pistacia lentiscus* L., saison, fluorescence de la chlorophylle a, photoinhibition, potentiel hydrique, sexe, aridité et salinité.

Abstract - Seasonal variability of ecophysiological response of a dioecious species *Pistacia lentiscus* L. was investigated in three highly contrasting ecological Mediterranean sites; arid, semi-arid and coastal. The results showed a sensitivity of *P. lentiscus* to low winter temperatures, since the recorded predawn Fv/Fm values were below 0.77. A chronic photoinhibition which affects both sexes was most remarkable in coastal sites (0.71). This was accompanied by a lowest chlorophyll a content ($0.6 \mu\text{g. g}^{-1} \text{ fw}$) compared to the other sites and also by a lower antenna energy conversion efficiency as suggested from light-response curves analysis. In spring, a sexual dimorphism was observed during fruiting stage, female plants predawn Fv/Fm ratio was significantly higher than that of male individuals. From this result we suggest that *P. lentiscus* fruiting carbon-demand involved source-regulated metabolic pathways. During summer, the protection of the photosynthetic apparatus against chronic photoinhibition was justified by high values of Carotenoid / total chlorophyll ratio essentially, in arid and saline sites. *P. lentiscus* plants were unstressed during autumn but the highest resilience capacity was observed from arid stands by improved photochemical quenching mechanisms. Comparisons between variables revealed that the ratio Fv/Fm and total chlorophyll contents were significantly correlated suggesting possible link between leaf fluorescence and reflectance properties in the perspective of investigating photosynthetic function at landscape level.

Key Words: *Pistacia lentiscus* L., seasons, chlorophyll a fluorescence, photoinhibition, water potential, sex, aridity, salinity.

4.1. Introduction

The Mediterranean climate induces on plant several types of stress that have an impact on their growth and development. Despite the mild winter climate compared to other regions of the globe productivity of Mediterranean plants is often severely inhibited. This inhibition is exacerbated in summer because the weather is particularly hot and dry. Autumn marks the beginning of precipitations, a physiologically key season since it allows to assess plants resilience, depending on the intensity of summer drought. In addition to the above-mentioned constraints, the coastal regions are influenced by other factors such as salt spray.

Pistacia lentiscus is one of the plants that is found both in the Mediterranean coast and inland. It is a sclerophyllous dioecious shrub which forms up to 2 m high, sometimes attaining a tree growth form in the more humid and protected sites (Munne-Bosch and Penuelas, 2003). *P. lentiscus* is a low altitude species which is very common in the Mediterranean Basin.

Exposure of plants to drought stress induces changes in most physiological and biochemical processes resulting in a disturbance on normal growth and productivity (Zhang *et al.*, 2005). Stressors affect either directly or indirectly the function of the photosynthetic apparatus and the performance of leaves and often modify their optical and fluorescence proprieties (Lichtenthaler *et al.*, 2000). Indeed, under these conditions, the mechanisms for disposing of excess energy do not work efficiently, thus causing changes in the competition reactions of photochemistry, heat loss and fluorescence (Naumann *et al.*, 2007; Longenberger *et al.*, 2009). As a result, 2 types of photoinhibition may occur: temporary or dynamic and sustained photoinhibition. The former is linked to physiological processes that are quickly reversible (Long *et al.*, 1994) while the latter depends on mechanisms that are slowly reversible as well as permanent dysfunction of the photochemical machinery (Osmond, 1994). Fluorescence analysis has become a powerful and widely used technique among plant physiologists and

ecophysiologicals (Maxwell and Johnson, 2000; Einhorn *et al.*, 2004). It provides information about overall photosynthetic potential of the plant (Rose and Haase, 2002) and for early stress detection (Lichtenthaler *et al.*, 2005). In addition to instantaneous fluorescence parameter measurements, it is often desirable to get a deeper knowledge of plant photosynthetic machinery and this may be achieved through light-response curves measurements (Rascher *et al.*, 2000).

Previous ecophysiological studies of *P. lentiscus* male and female plants showed that at fruiting stage, females strongly reduced new leaves occurrence and the subsequent reduced photosynthetic capacity was compensated by delaying older leaves abscission compared to male plants (Jonasson *et al.*, 1997). Correia and Barradas (2000) realized summer measurements and they concluded that in natural stress conditions, female shrubs have a lower CO₂ assimilation rates and stomatal conductances compared to male plants. On the other hand, *in situ* gas exchanges measurements were carried out throughout a year but solely focused on female plants of *P. lentiscus* growing in 2 contrasting sites (Flexas *et al.*, 2001).

In this study, we examined the ecophysiological behavior of female and male plants of *P. lentiscus* in 3 contrasting sites during the 4 seasons. Our specific goals were: (i) to provide by fluorescence measurements, a functional basis of sexes coexistence within habitats. This could help predicting future plant community sex-ratio patterns; (ii) to test the hypothesis that the compensatory effect of the photosynthesis capacity developed by female plants during fruiting is accompanied by physiological changes in photosynthesis apparatus; (iii) to find possible links between leaves fluorescence parameters and plant physiological data in the perspective of large-scale ecosystem studies by remote-sensing approaches.

4.2. Materials and methods

4.2.1. Plant material and growth conditions

This study was conducted on three sites in the vicinity of Marseille (France) at different ecological conditions but very close geographically: Montespín (semi-arid), Montredon (coastal) and Callelongue which was situated away from salinity but belonging to the most arid area in France with annual precipitations ranging from 300-400 mm.

Weather data averages of these sites are represented by the nearest station which is located in Marignane (**Fig. 39**). It is clear from this figure that winter (February), is characterized by low temperatures (<4 °C) combined with low rainfall (<50 mm). In spring (April), there is increased rainfall (100 mm) and minimum temperatures (10 °C). The driest season is summer with the lowest rainfall (<1mm) and the highest minimum temperatures (20 °C) followed by a recovery in the autumn with a maximum rainfall recorded in September.

Three populations per site were chosen in order to take into account the variability of environmental conditions. 12 individuals of *Pistacia lentiscus* L. (6 males and 6 females in order to reduce sex effect on fluorescence measurements) with the same age were chosen per population.

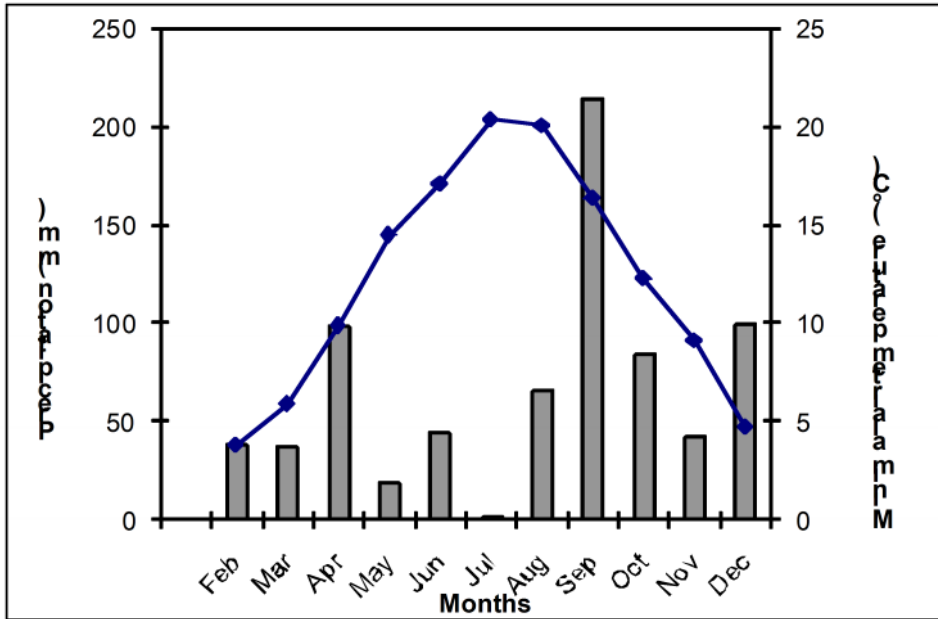


Fig. 39. Annual mean monthly precipitation (in columns) and minimal air temperature in 2009 at Marseille-Marignane (Lat. 43°26'12"N and Long. 5°12'54"E) in south-eastern France. Data source: METEO-FRANCE.

Chlorophyll a fluorescence measurements, water potential and pigments analysis were done in fully expanded leaves of *Pistacia lentiscus* shrubs. These measurements were conducted along the year at predawn before sunrise (6h:00): in winter (10-23 February 2009), spring (18-22 April 2009), summer (21 June-1 July 2009) and finally in autumn (3 November-9 December 2009). One measure was done per tree and season.

4.2.2. Predawn leaf water potential

One measure of leaf water potential per tree was determined at predawn in the field using a pressure chamber of Scholender type (Scholender *et al.*, 1965). It is also indicator of soil water potential because of absence of transpiration in darkness before sunrise.

4.2.3. Predawn leaf pigments analysis

Leaves were collected at predawn then wrapped in aluminum foil to avoid degradation of pigments by light then stored at - 20°C until use. Chlorophyll and total carotenoids were extracted with acetone (80%), filtered through Millipore membrane (0.45 µm pore size). Quantification was performed with a spectrophotometer (BioMateTM3) by measuring their absorbance at 663, 646 and 470 nm according to Wellburn (1994).

4.2.4. Predawn chlorophyll a fluorescence and light-response kinetic measurements

The leaf chlorophyll a fluorescence measurements (12 measures per population: 36 measures per site) were performed with a portable pulse-amplitude modulated Fluorometer (Hansatech King's Lynn, Norfolk, PE32 1JL, England) equipped with a leaf clip holder. Five incident photosynthetically active irradiance (PAR) intensities were used in order to simulate day and

seasonal environmental conditions: 360, 540, 900, 1260 and 1620 $\mu\text{mol Photons/m}^2/\text{s}$ were selected for winter measurements while, 360, 540, 900, 1440 and 2160 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ were PAR levels in spring, summer and autumn. A light saturating pulse (8.000 $\mu\text{mol Photons/m}^2/\text{s}$) was applied for each actinic light only when the steady-state fluorescence intensity was reached. Fluorescence measurements were conducted in central part of sun leave lamina using dark-adaptation leaf clips. Maximum quantum efficiency of PSII reaction centers was determined from the ratio of variable to maximal fluorescence, i.e. $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$. F_0 is minimum fluorescence level of a dark-adapted plant with the PSII primary acceptor 'open' (Q_A fully oxidized) which is obtained by application of low-intensity red measuring light source (630 nm). F_m is the maximal fluorescence level achieved upon application of saturating flash of light (8000 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$), such that all primary quinone electrons acceptor in PSII are closed (Q_A fully reduced).

The photochemical efficiency in the light adapted state of photosystem 2 (ΦPSII) is calculated from $(F_m' - F_s)/F_m'$ according to Genty *et al.* (1989) where F_s is steady-state fluorescence, and F_m' is the maximal fluorescence during saturating light flash.

Two quenching coefficient were assessed: Non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence (NPQ) was calculated as $(F_m - F_m')/F_m'$ (Bilger and Björkman, 1990) which express the dissipation of excess energy as heat and qP , a photochemical quenching was calculated from $(F_m' - F_s)/(F_m' - F_0)$ which gives an indication of the proportion of PSII reaction centers that are open (Maxwell and Jonhson, 2000).

4.2.5. Statistical analyses

Predawn data were analyzed by ANOVA model. Turkey's HSD (Honestly Significant Differences) procedure was used to test for significant differences in fluorescence ratio F_v/F_m , pigment contents and water potential between sex, population, sites and seasons. The statistical analyses were performed using R statistical software (R development Core Team, 2009) and the package "agricolae" (De Mendiburu, 2010).

Light kinetics data were fitted to exponential and square root models. Before statistical analysis, the exponential actual quantum yield and photochemical quenching coefficient models were then fitted to linear regression using Log transformed data. In the case of the Non-Photochemical Quenching coefficient, data were square transformed. Hence, covariance analysis (ANCOVA), with light intensities as the covariate was used to compare slopes between sex and sites for each season and significant differences in quantum yield, photochemical and non-photochemical quenching coefficients were determined with Tukey's test. Curves fitting and statistical analyses were performed using Statgraphics Centurion XV software.

4.3. Results

4.3.1. Spatial and temporal variations of predawn leaf water potential

ANOVA (Tab. 1) revealed that predawn leaf water potential was strongly mediated by site x season interaction ($p = 4.1 \cdot 10^{-8}$) with a smaller influence of site ($p = 7.10^{-7}$) and season ($p = 0.000$). There was no Population and sex effects on leaf water potential. Two-way-ANOVA followed by Tukey's HSD test showed that *P. lentiscus* leaves from costal habitats exhibited the lowest water potential all over the seasons (Fig. 40). For instance predawn leaf water

potential in summer were - 2.75, -2.25 and -1.5 MPa in coastal, arid and semi-arid sites, respectively.

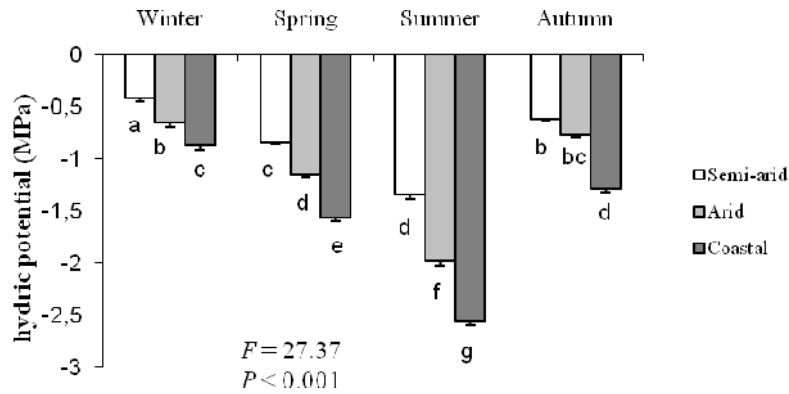


Fig. 40. Leaf water potential of *P. lentiscus* leaves. Site *versus* season interaction. Means of n=36 with standard errors, $p < 0.05$.

4.3.2. Spatial and seasonal variations of predawn maximum quantum efficiency and leaf photosynthetic pigment contents.

ANOVA performed (**Tab. 9**) showed that predawn maximum efficiency of PSII (Fv/Fm) was highly influenced by site x season interaction ($p = 0.002$) and also by Sex versus Season interaction ($p = 0.03$). No population effect was observed. Two-way-ANOVA followed by post hoc test regarding site x season revealed that, the lowest value of the ration Fv/Fm (0.70) was recorded in coastal stands during winter (**Fig. 41**). In summer the lowest data of this ratio was obtained in both coastal and arid stands whereas in autumn the latter site exhibited the highest ratio (0.80). The maximum quantum efficiency for both sexes is independent to site conditions but is largely determined by season changes (**Fig. 42**). Indeed Fv/Fm of female plants (0.83) was significantly higher in spring compared to males (0.80).

Tab. 9. ANOVA analysis of pigment content ($\mu\text{g. g}^{-1}$ fw), Fv/Fm and leaf water potential (MPa) measured at predawn in *P. lentiscus* leaves (only significant differences are shown). Means of n= 36 per site.

	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Carotenoids	Carotenoid/Total chlorophyll	Fv/Fm	Water potential
Site	0.001	0.002	0.001	0.000	0.003	0.02	$7.1 \cdot 10^{-7}$
Site:Population	$7.1 \cdot 10^{-6}$	0.000	$7.4 \cdot 10^{-6}$			0.02	
Sex						0.025	
Season						0.02	0.000
Site:Season	$8.15 \cdot 10^{-10}$	$1.1 \cdot 10^{-8}$	$9.6 \cdot 10^{-10}$	0.004	$1.1 \cdot 10^{-5}$	0.002	$4.1 \cdot 10^{-8}$
Site: Pop:Season						0.0004	
Sex:Season					0.031	0.03	

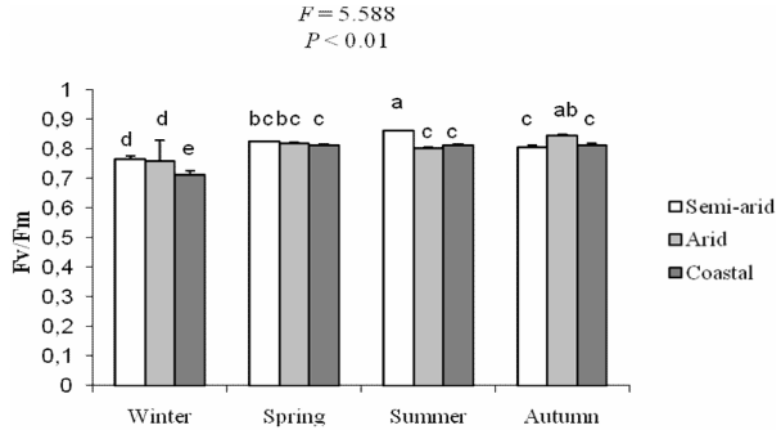


Fig. 41. Variance analysis (ANOVA test, 5%) of predawn maximum efficiency of PSII (Fv/Fm) site vs season interaction.

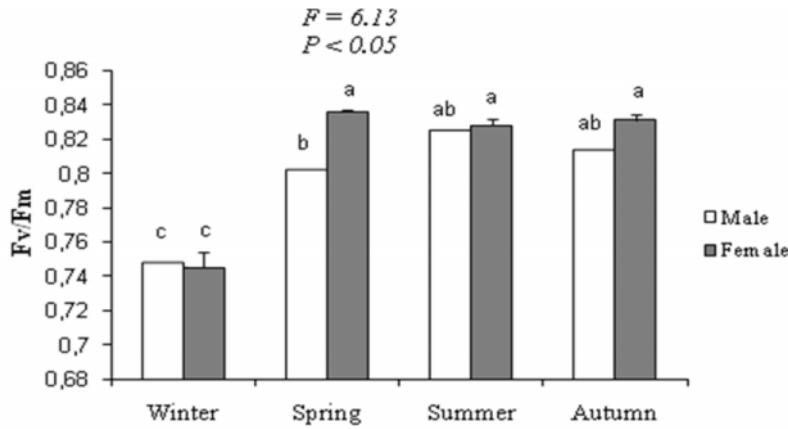


Fig. 42. Variance analysis (ANOVA test, 5%) of predawn maximum efficiency of PSII (Fv/Fm) season vs sex interaction

Taking into account *P. lentiscus* leaves pigment contents, there was no significant difference between sexes (Table 1). Significant effects of site versus season interaction ($p < 0.001$) on chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophylls and the ratio carotenoid/total chlorophylls were recorded (**Fig. 43: A, B, C and D**). The lowest contents of chlorophyll a ($0.4\text{--}0.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ fw) were obtained in coastal stands during winter, spring and summer (**Fig. 43A**). This observation was also confirmed for both chlorophyll b (**Fig. 43B**) and total chlorophylls (**Fig. 43C**) contents. However, in autumn coastal and arid leaves of *P. lentiscus* were characterized by a significantly higher content of total chlorophylls compared to semi-arid plants (**Fig. 43C**). Regarding the ratio carotenoid/total chlorophylls, the highest ones were obtained during summer from leaves of arid and coastal sites (**Fig. 43D**).

4.3.3. Correlations between predawn physiological parameters

A significant correlation was established between predawn leaf water potential and the ratio carotenoid/total chlorophylls (**Fig. 44A**). This ratio decreases exponentially with the absolute value of water potential. Carotenoid and total chlorophylls were also correlated (**Fig. 44B**) as well as total chlorophyll versus the ratio Fv/Fm (**Fig. 44C**).

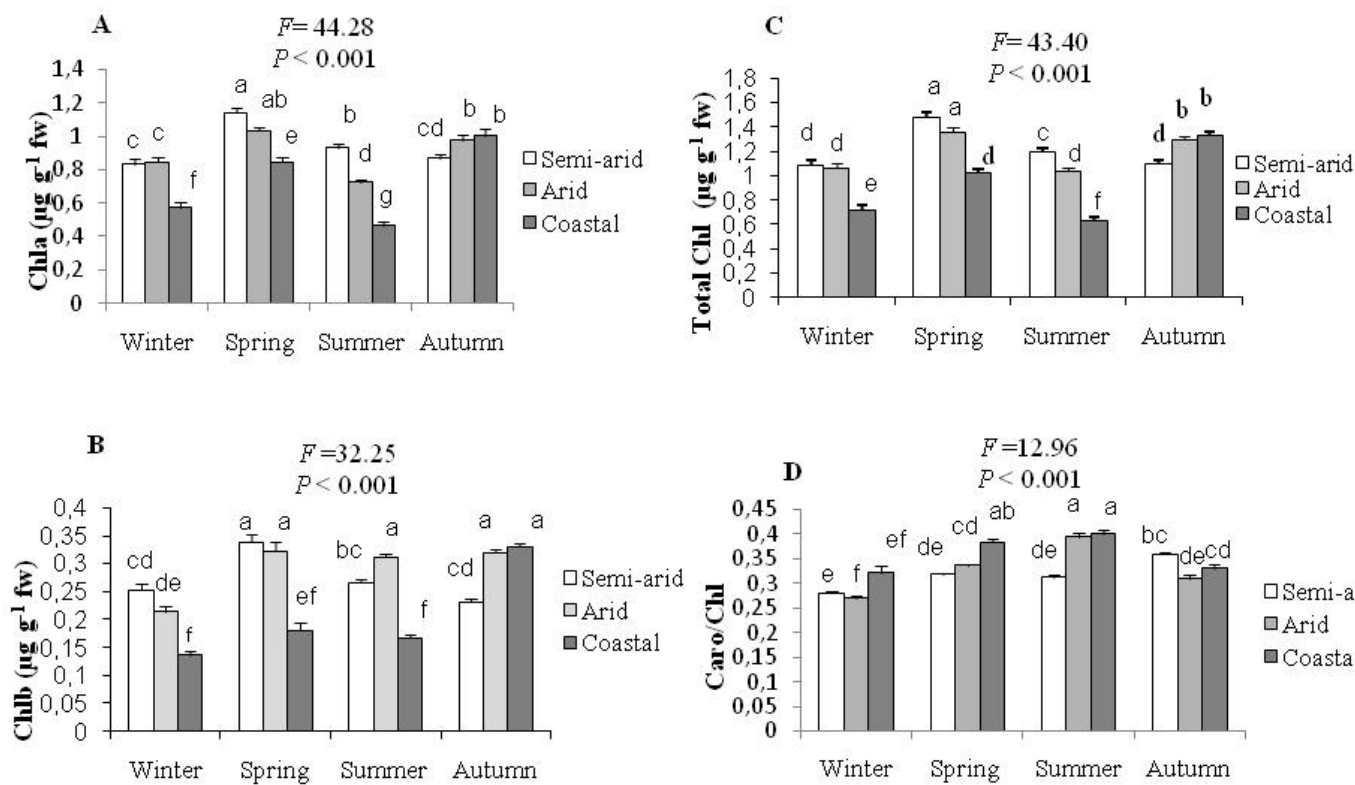


Fig. 43. Variance analysis (ANOVA test, 5%) of pigment contents in leaves of *Pistacia lentiscus* L. site vs season interaction. **A:** Chlorophyll a, **B:** chlorophyll b, **C:** Total chlorophyll, **D:** Carotenoid/Chlorophyll ratio.

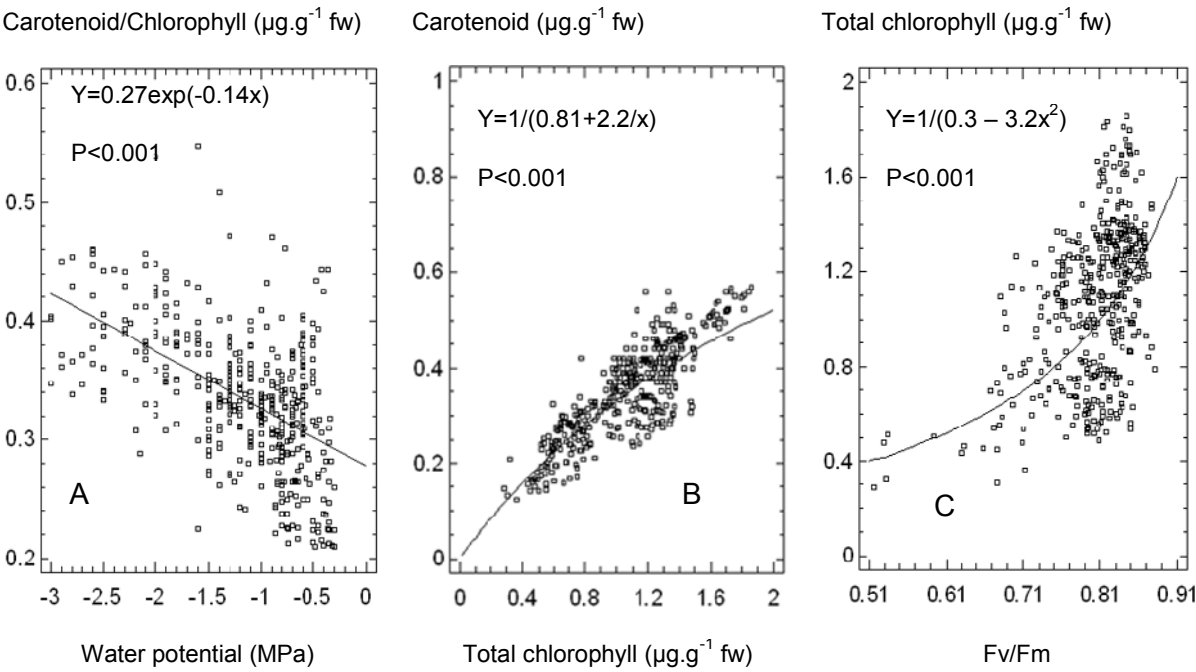


Fig. 44. Correlation curves between predawn physiological parameters; **A:** Carotenoid/Chlorophyll ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{ fw}$) and Water potential (MPa); **B:** Carotenoid ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{ fw}$) and Total chlorophyll ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{ fw}$); **C:** total chlorophyll ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{ fw}$) and Fv/Fm.

4.3.4. Seasonal light-response models of the contrasting sites

4.3.4.1. Winter models

Fig. 45 shows the actual yield of PSII as a function of actinic light intensities recorded *in situ*. The regression curves were adjusted to decreasing exponential functions with a significant difference of yield between sites ($F=133.6$; $p<0.001$) sexes ($F=5.02$; $p=0.02$) and sex x site interaction ($F=5.85$; $p=0.003$) as presented in table 2. Indeed, the effective quantum yield of photon energy conversion in PSII was significantly different for both male and female plants of semi-arid population compared to coastal and arid sites. Moreover, the quantum yield between sexes were significantly different in semi-arid stands (**Fig. 45: B1 and B2**). Especially, the light radiation which induces the half maximal inhibition of the maximal efficiency of PSII in dark acclimated leaves ($Y_{1/2}$) were 2888 and 2166 $\mu\text{mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ for female and male plants, respectively.

The photochemical quenching (qP) data significantly fit to exponential function (**Fig. 46**). The kinetics exhibited some differences between sites ($F=25.50$; $p<0.001$) but not among sexes (**Tab. 2**). The decay constant of both male and female individuals of qP kinetics from coastal stands were significantly lower than those of arid and semi-arid stands. In other terms, in the case of male individuals for instance, the light intensity that causes the closure of half maximal openness of PSII reaction centers in dark adapted state ($qP_{1/2}$) were 5776, 4332 and 3850 $\mu\text{mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ for coastal, semi-arid and arid stands, respectively.

NPQ (Non-Photochemical Quenching) regression lines were adjusted to square-root functions (**Fig. 47**) but the differences were significant only between sites ($F=6.17$; $p=0.002$) (**Tab. 10**).

4.3.4.2. Spring models

PSII actual quantum yield kinetics during spring were significantly different for the factor site ($F=66.81$; $p<0.001$) and sex ($F=13.25$; $p<0.001$) and the interaction sex x site was not significant (**Tab. 10**). Regardless the sites, the quantum yield kinetics differ between plant sexes (**Tab. 11**). $Y_{1/2}$ for male individuals were 2567, 2888 and 3150 $\mu\text{mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ for coastal, semi-arid and arid stands, respectively. For females, these light radiations were 3150, 3850 and 4077 $\mu\text{mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ in coastal, semi-arid and arid sites, respectively. Taking into account the photochemical quenching data pattern (**Tab. 10**), there was significant difference only between sites ($F=7.77$; $p<0.001$). For female plants any difference was shown among the sites (**Tab. 11**) but, appreciable differences were observed considering male populations of semi-arid and arid sites; $qP_{1/2}$ were 4951 and 9902 $\mu\text{mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, respectively. NPQ patterns exhibited difference only between sites ($F=3.06$; $p=0.047$). NPQ of coastal males population was higher than that of semi-arid stands (**Tab. 10 and 11**).

4.3.4.3. Summer models

Some differences regarding the actual quantum yield were observed only among sites ($F=152.2$; $p<0.001$), there was no interaction sex x site (**Tab. 10**). The decay constant of this yield for samples of semi-arid site was about 2-fold that of the other sites (**Tab. 11**). Consequently, $Y_{1/2}$ of semi-arid male individuals was 5335 $\mu\text{mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ whereas that of the arid and coastal stands was 2235 $\mu\text{mol photon m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

The photochemical quenching coefficient kinetics were similar for both male and female plants regardless the sites investigated (**Tab. 10** and **11**). Only a site effect was noticed ($F=16.5$; $p<0.001$) male individuals exhibited significant differences between coastal and semi-arid sites. NPQ kinetics showed significant differences for the factors sex ($F=5.69$; $p=0.017$) site ($F=42.96$; $p<0.001$) and the interaction site x sex ($F=3.56$; $p=0.029$). Among sexes the difference was shown only in coastal stands (**Tab. 10** and **11**). The lowest value of NPQ at saturating light intensity was recorded in semi-arid stands (1.03) compared to coastal and arid zones (1.68 and 1.58, respectively).

4.3.4.4. Autumn models

PSII actual efficiency kinetics during autumn exhibited significant differences among sexes ($F=14.72$; $p=0.001$), sites ($F=143.82$; $p<0.001$) and the interaction site x sex was not significant. Similar patterns were obtained for sexes except for samples of arid stands (**Tab. 10** and **11**). In particular, $Y_{1/2}$ of male individuals was $4077 \mu\text{mol photon m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ while that of female plants was about $5332 \mu\text{mol photon m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. No sex effect was shown with qP kinetics but this was significant for the factor site ($F= 159.7$; $p<0.001$) and the interaction sex x site ($F= 6.24$; $p=0.002$). $qP_{1/2}$ for females of semi-arid populations was about $2772 \mu\text{mol photon m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ corresponding to about one third that of coastal and arid sites (**Tab. 10** and **11**). Regarding the kinetics patterns of NPQ, site ($F= 52.51$; $p<0.001$) and sex x site interaction ($F=6.67$; $p=0.001$) effects were shown but there was no sex effect (**Tab. 10** and **11**).

Tab. 10. ANCOVA analysis ($p<0.05$) of the response curves of actual PSII efficiency (ΦPSII), the photochemical quenching coefficient (qP), the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of *P. lentiscus* from coastal, semi-arid and arid sites during spring, summer, autumn and winter.

Season	Parameter	Site		Sex		Site x Sex interaction	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Spring	ΦPSII	66.81	<0.001	13.25	<0.001		n.s
	qP	7.77	<0.001		n.s		n.s
	NPQ	3.06	0.047		n.s		n.s
Summer	ΦPSII	152.20	<0.001		n.s		n.s
	qP	16.50	<0.001		n.s		n.s
	NPQ	42.96	<0.001	5.69	0.017	3.56	0.029
Autumn	ΦPSII	143.82	<0.001	14.72	0.001		n.s
	qP	159.70	<0.001		n.s	6.24	0.002
	NPQ	52.51	<0.001		n.s	6.67	0.001
Winter	ΦPSII	133.60	<0.001	5.02	0.025	5.85	0.003
	qP	25.50	<0.001		n.s		n.s
	NPQ	6.17	0.002		n.s		n.s

Tab. 11. Regression equations ($p < 0.001$) of the response curves of actual PSII efficiency (Φ PSII), the photochemical quenching coefficient (qP), the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of *P. lentiscus* from coastal, semi-arid and arid sites during spring, summer and autumn. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: $d < c < b < a$.

Season	Parameter	Coastal		Semi-arid		Arid	
		MALE	Female	MALE	Female	MALE	Female
Spring	Φ PSII	$y=0.79\exp$ $(-2.7 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.91$ d	$y=0.82\exp$ $(-2.2 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.88$ bc	$y=0.81\exp$ $(-2.4 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.77$ c	$y=0.82\exp$ $(-1.8 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.88$ ab	$y=0.79\exp$ $(-2.2 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.81$ c	$y=0.82\exp$ $(-1.7 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.88$ a
		$y=0.96\exp$ $(-9.10 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.69$ ab	$y=0.97\exp$ $(-1.1 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.80$ ab	$y=0.98\exp$ $(-1.4 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.63$ b	$y=0.97\exp$ $(-9.10 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.76$ ab	$y=0.97\exp$ $(-7.10 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.76$ a	$y=0.98\exp$ $(-7.10 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.77$ a
	NPQ	$y^2=0.11 +$ $4.7 \cdot 10^{-4} x$ $r=-0.93$ a	$y^2=0.10 +$ $4.7 \cdot 10^{-4} x$ $r=-0.93$ ab	$y^2=0.12 +$ $4.10 \cdot 10^{-4} x$ $r=-0.88$ b	$y^2=0.16 +$ $4.10 \cdot 10^{-4} x$ $r=-0.88$ ab	$y^2=0.12 +$ $4.10 \cdot 10^{-4} x$ $r=-0.89$ ab	$y^2=0.12 +$ $4.10 \cdot 10^{-4} x$ $r=-0.92$ ab
	Φ PSII	$y=0.77\exp$ $(-3.10 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.80$ b	$y=0.77\exp$ $(-4.10 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.78$ b	$y=0.83\exp$ $(-1.10 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.76$ a	$y=0.82\exp$ $(-1.10 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.76$ a	$y=0.77 \exp$ $(-3.10 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.83$ b	$y=0.76 \exp$ $(-3.10 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.78$ b
		$y=0.95\exp$ $(-7.8 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.68$ c	$y=0.94\exp$ $(-6.7 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.72$ c	$y=0.97\exp$ $(-6.4 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.58$ ab	$y=0.96\exp$ $(-5.7 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.57$ a	$y=0.95\exp$ $(-7.10 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.64$ bc	$y=0.94\exp$ $(-6.2 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.58$ bc
	NPQ	$y^2=0.22 +$ $5.10 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.87$ b	$y^2=0.27 +$ $6.10 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.86$ a	$y^2=0.22 +$ $4.10 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.82$ c	$y^2=0.25 +$ $3.10 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.76$ c	$y^2=0.21 +$ $5.10 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.88$ b	$y^2=0.25 +$ $5.10 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.85$ ab
Autumn	Φ PSII	$y=0.76\exp$ $(-1.5 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.77$ b	$y=0.78\exp$ $(-1.5 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.81$ b	$y=0.78\exp$ $(-3.3 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.94$ c	$y=0.82\exp$ $(-3.6 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.94$ c	$y=0.79\exp$ $(-1.7 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.77$ b	$y=750\exp$ $(-1.3 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.79$ a
		$y=0.99\exp$ $(-7.6 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.83$ a	$y=0.99\exp$ $(-7.5 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.83$ a	$y=0.97\exp$ $(-1.9 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.77$ b	$y=0.98\exp$ $(-2.5 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.77$ b	$y=0.99\exp$ $(-1.0 \cdot 10^{-4} x)$ $r=-0.77$ a	$y=1.08\exp$ $(-8.1 \cdot 10^{-5} x)$ $r=-0.79$ a
	NPQ	$y^2=0.19 +$ $4.6 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.85$ a	$y^2=0.20 +$ $4.7 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.85$ a	$y^2=0.04 +$ $4.5 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.94$ b	$y^2=0.06 +$ $4.4 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.92$ b	$y^2=0.22 +$ $4.7 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.83$ a	$y^2=0.17 +$ $4.1 \cdot 10^{-4} x$ $r=0.87$ ab
	Φ PSII						
	NPQ						

Fig. 45. Typical response curves of actual PSII efficiency to light intensity (Φ_{PSII}) in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during winter. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: $d < c < b < a$.

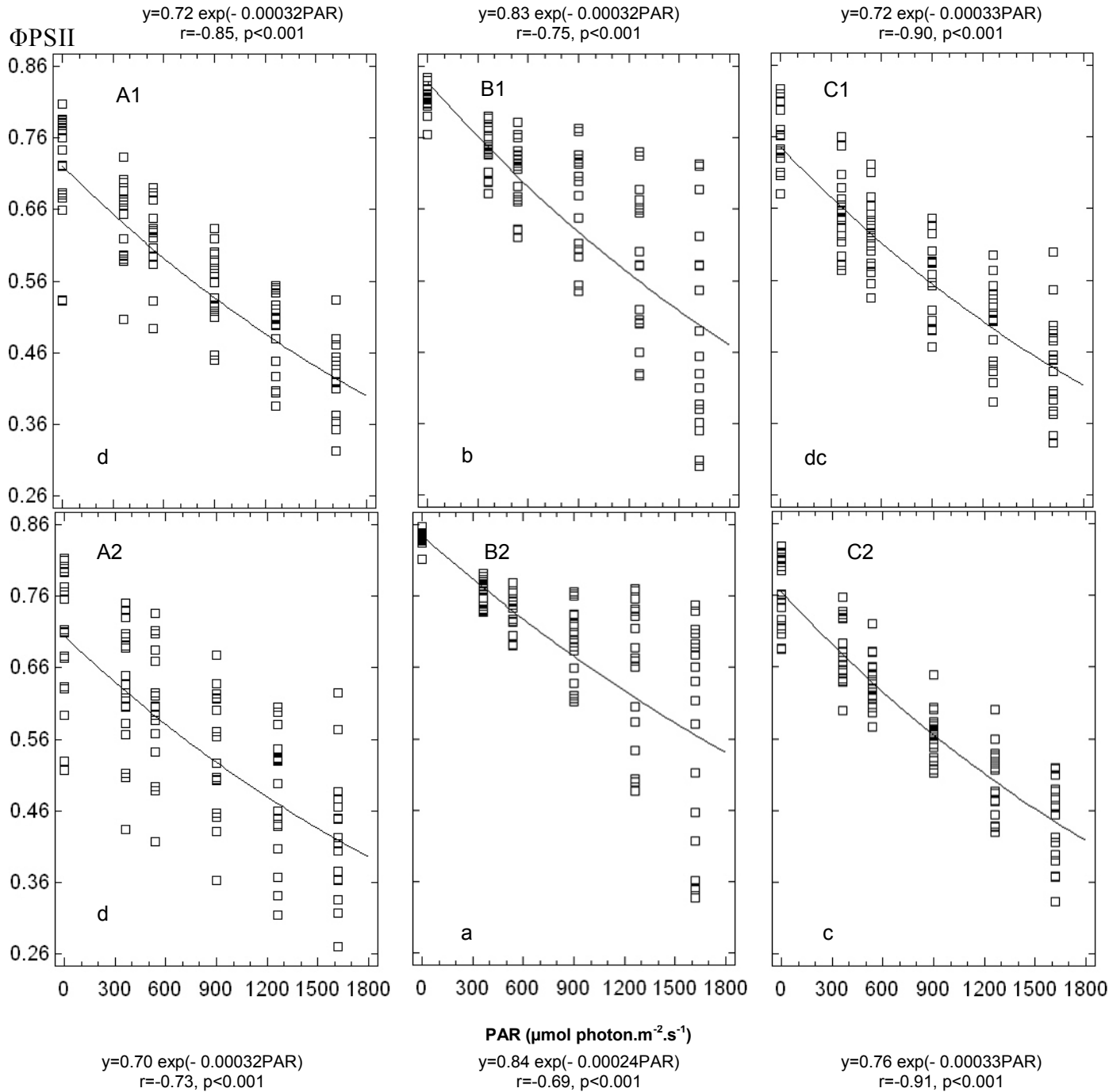


Fig. 46. Typical response curves of the photochemical quenching coefficient (qP) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during winter. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $b<a$.

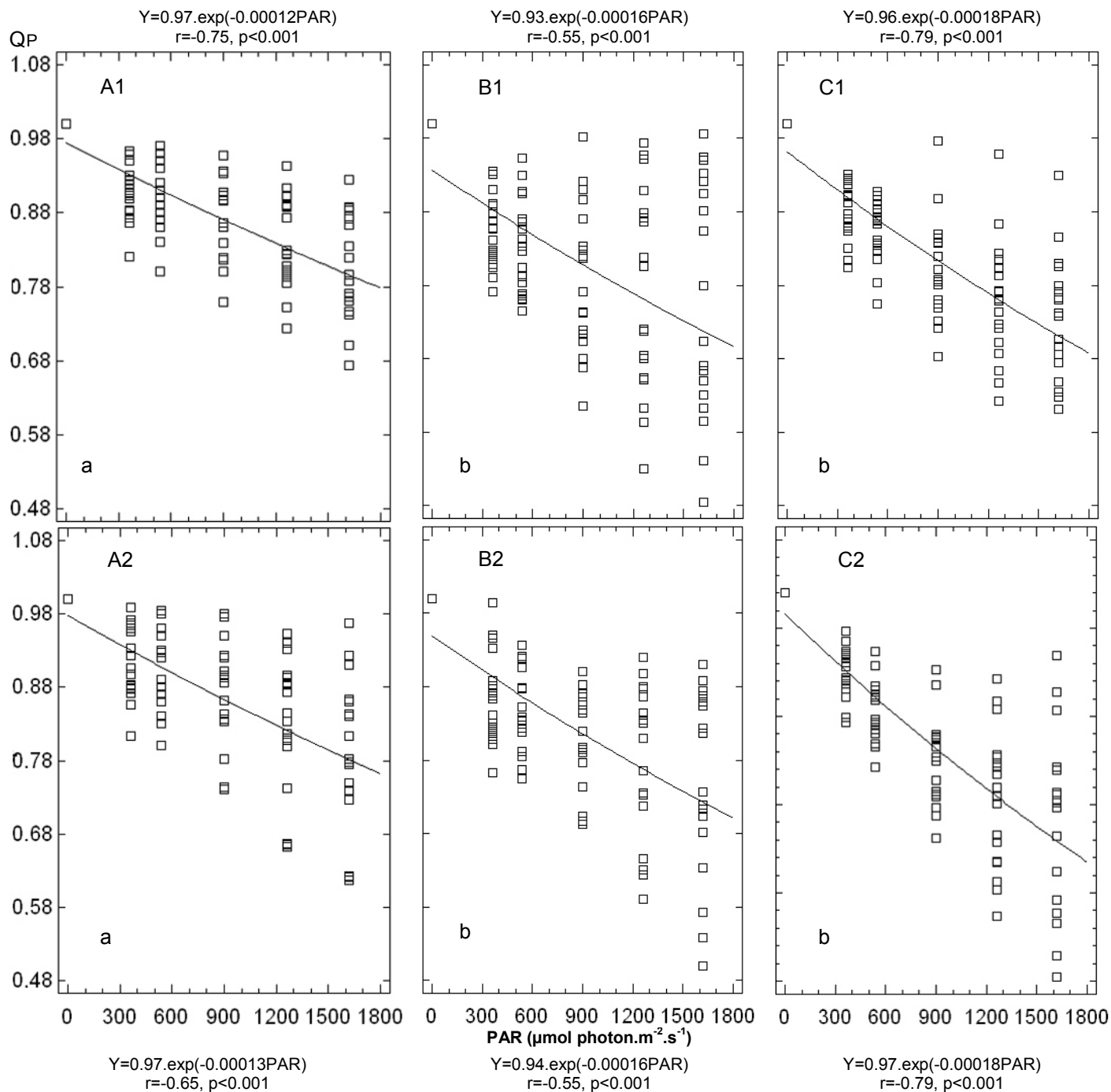
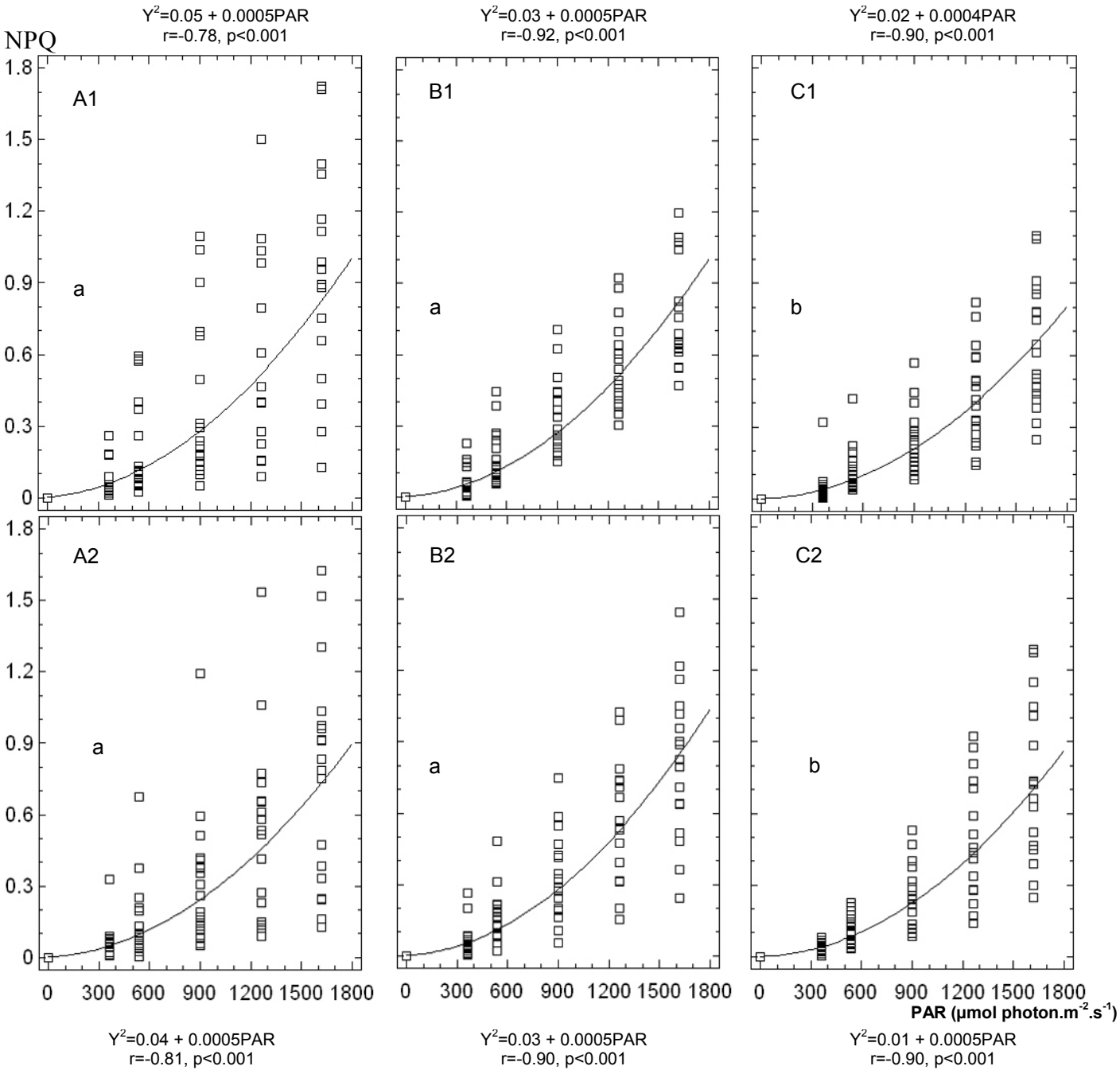


Fig. 47. Typical response curves of the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during winter. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $b<a$.



4.4. Discussion

Maximum quantum efficiency of PSII reaction centers (Fv/Fm) is widely used to detect changes in the photosynthetic apparatus as a result of stress (Baker and Rosenqvist, 2004). The reduction of this ratio is an excellent indicator of photoinhibition in leaves (Björkman and Demmig, 1987). These authors considered that healthy C₃ species, dark-adapted have an Fv/Fm ratio ranging from 0.75-0.85. Photoinhibition is a complex mechanism that may be reversible or not, depending on light intensity and duration (Osmond, 1994). This ratio measured at predawn was lower in winter compared to that obtained all over the year regardless plant sex and site constraints: 0.71, 0.75 and 0.76 in coastal, arid and semi-arid sites, respectively (**Fig. 41**). Taking into account the above-mentioned definitions we can conclude that *P. lentiscus* undergoes winter chronic photoinhibition especially, populations of coastal environments. Winter chronic photoinhibition has been also shown for female plants of *P. lentiscus* (Flexas *et al.*, 2001) as well as for several Mediterranean plants (Olivera and Peñuelas, 2000; Martinez-Ferri *et al.*, 2004). The observed sustained down-regulation of PSII efficiency may be the result of several factors such as low temperatures reduce enzyme activity, a substantial decrease of PSII components and water availability. Among PSII constituents, photosynthetic pigments were analysed and this led to the conclusion that leaves of *P. lentiscus* from coastal stands exhibited the lowest content of chlorophyll a (**Fig. 43A**). Because chlorophyll a are constituents of Photosystems antenna their low content would reduce the photosystems functional properties and thereby, the maximal quantum efficiency of PSII. The low content of chlorophyll a can also be regarded as a protective adaptive mechanism in stressed plants (Kyparisis *et al.*, 2000; Balaguer *et al.*, 2002). Indeed, Chlorophyll loss under excess sunlight reduces leaf photon absorption capacity, thus preventing over-excitation of photosystems (Anderson *et al.* 1992). However, adaptation to winter photoinhibition of *Cistus albidus* and *Quercus ilex* was not affected by chlorophyll contents (Olivera and Peñuelas, 2000) suggesting that the decrease of chlorophyll a contents as stress indicator is species-dependant.

In spring, *P. lentiscus* plants were not submitted to sustained photoinhibition but a sexual dimorphism regarding PSII photochemistry was evident; females Fv/Fm ratio (0.84) was higher than that of males (0.80) as shown in **Fig. 41**. On one hand, *P. lentiscus* set fruits in April, but their development and maturation continue until autumn (Jordano, 1989; Montserrat-Martí and Pérez-Rontomé, 2002). On the other hand, fructification coincides with physiological gender differences and thus, sex-related photosynthesis responses are not excluded as reported earlier for other species (Laporte and Delph, 1996; Letts *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2008a). In particular, a higher rate of photosynthesis was found from male individuals compared to females and this led to suggest that females have evolved sink-regulated mechanisms to cope with fruiting carbon demand. In our study, the sexual differences occurred only during the favorable period of growth with a high Fv/Fm ratio for females and these could mean that fruiting carbon demand of *P. lentiscus* rather, involves source-regulated mechanisms. If so, it is tempting to identify the components that would be sex-related demands. By examining spring photosynthetic pigment traits, we found that these components were not sex-dependent (**Tab. 9**).

Surprisingly, the measurements carried out in summer, did not showed any chronic photoinhibition as the recorded Fv/Fm values were typically that of unstressed plants. This photosynthesis response is associated with an increase of the ratio carotenoid/total

chlorophylls in coastal and arid stands whereas it remained unchanged in semi-arid populations (**Fig. 43D**). These observations indicate the plasticity of *P. lentiscus* photosynthesis machinery in contrasting environments. The increase of carotenoid contents may be interpreted as preventing photodamage occurrence. Indeed, carotenoids of thylakoid membranes act as a protective system, since they abduct or prevent the formation of radicals or other reactive molecular species, especially those derived from oxygen (Demmig-Adams *et al.*, 1989; Krause, 1988). Moreover, these pigments annul the chlorophyll triplet and stimulate the transition of oxygen singlets into triplets (Long *et al.*, 1994). This mechanism of protection of photosynthetic apparatus from oxidative damage is a common pattern for several species to cope with excess energy that they need for their photosynthesis (Choudhury and Behera, 2001). As well as in summer, *P. lentiscus* plants were unstressed during autumn but the highest predawn Fv/Fm ratio was observed from arid stands. This finding highlights the importance of plants resilience in harsh environments.

Integrating the different physiological parameters all over the 4 seasons led to establish several significative correlations (**Fig. 44**). Among these, carotenoids increase with total chlorophyll contents. This result is in accordance with the involvement of DOX/MEP pathway in the coordinated biosynthesis of carotenoids and the long alcoholic side-chain of chlorophylls. Hence, *GGR2* and *PSY* genes presumably, are key regulatory node that determine carotenoids/ total chlorophylls balance as demonstrated from transcriptomic analysis of *Arabidopsis thaliana* (Meier *et al.*, 2011). We also found a strong correlation between total chlorophyll content and the predawn Fv/Fm ratio. This could mean that remote-sensitive measurements of *P. lentiscus* leaves chlorophyll reflectance could give health appreciation of large scale population.

P. lentiscus PSII photochemistry was further investigated through light kinetic measurements that simulated half diurnal course of leaf photosynthesis. The main goal was to get a deeper insight into the plant physiological plasticity.

During winter, as above-mentioned by predawn measurements, *P. lentiscus* showed chronic photoinhibition principally in coastal stands and it was thus tempting to address the questions related to the underlying photoprotective quenching mechanisms. The constant decays of the actual quantum yield patterns did not change significantly except for female plants in semi-arid site (**Fig. 45**). This suggests that harsh environmental conditions during winter tend to smooth plants sex-related photosynthesis light reaction differences. Photochemical reactions within PSII result in the conversion of light into redox potential energy and this conversion is called photochemical quenching (qP). A decrease in qP is attributed to an increase of the reduction state of the QA pool, which means that high qP values in plants is synonym to photoinhibition avoidance (Lu and Lu, 2004). There exist another decay mechanism for de-excitation of chlorophyll a in competition with photochemistry. They are termed non-photochemical quenching (NPQ) and are often associated with such processes as: the transthylakoid pH gradient (ΔpH), xanthophylls cycle and the aggregation of PSII light Harvesting Complex (Ivanov *et al.*, 2008). By examining our data, qP patterns were significantly different between coastal stands and the other locations (**Fig. 46**). However, no significant differences were observed regarding NPQ values (**Fig. 47**). Because ΦPSII is the product of qP and the antenna conversion efficiency, the chronic photoinhibition observed during winter in coastal stands rather, involves antenna conversion mechanisms of extra light absorbed. These facts seem to corroborate the decrease of total chlorophyll contents shown from leaves harvested at predawn.

In spring, PSII actual quantum yield changes depending on sex and site conditions. Individual males quantum yield decreases faster with increasing light radiation than that of female plants in all the investigated sites (**Tab. 11**). A significant sex effect was clearly shown but when taking into account the kinetics of qP and NPQ, only site effect was shown. The lower Φ_{PSII} exhibited by male individuals of coastal stand compared to those of coastal stands is rather the result of an increase loss of energy by non-photochemical quenching processes. This is in accordance with the significant higher content of carotenoids found in coastal stands. The other highlight of these results is that neither qP nor NPQ could explain the difference in PSII quantum yield between sexes in spring. Further directions should take into account the possible loss of energy between its transfert from the antenna to PSII reaction center and/or stomata control of gas diffusion throughout the mesophyll.

In summer there was no sex effect when considering the constant decay of PSII quantum yield efficiency. However, gas exchange measurements led to conclude that under stress conditions in summer, *P. lentiscus* male individuals exhibited a higher CO_2 assimilation rates compared to females (Correia and Diaz Barrada, 2000). The higher rate of light conversion to chemical energy by samples of semi-arid areas is clearly due to the involvement of photochemical mechanisms. Indeed, because of the highest leaf water status in semi-arid sites, it is reasonable to hypothesize for an improved water splitting OEC-catalyzed. During autumn, arid stands showed the lowest constant decay of actual PSII quantum yield curves (**Tab. 11**). By examining the different quenching coefficients, it appears that the high resilience capacity of these populations is the consequence of an improved photochemical quenching mechanisms. Since photosystem reaction centers are composed by chlorophyll a dimmers, their low content would reduce the proportion of functional photosystems and thereby the maximal quantum efficiency of PSII. Thus, the high levels of chlorophyll a found in samples of arid zone may explain their highest resilience capacity.

In conclusion to this work, *P. lentiscus* physiological behaviors change depending on environmental constraints and season. The annual patterns of PSII maximal quantum yield were characterized by a suboptimal activity during winter especially, coastal populations exhibited a chronic photoinhibition. This is probably the result of several factors as salt and polluted sprays as well as soil conditions. Although no chronic photoinhibition was shown during summer and autumn, these seasons were highly site-discriminating. Summer climatic conditions were much more critical for individuals of arid and coastal zones while in autumn only individuals of arid environment showed a greater resilience to drought. This suggests a possible long-term regression of the distribution *P. lentiscus* in coastal stands. Our results confirm through functional approaches that *P. lentiscus* is a well adapted plant to drought and coastal conditions. The leaves photodamage avoidance involves mainly photochemical quenching mechanisms during summer and autumn. Non-Photochemical-Quenching coefficient appeared as the most plastic of the fluorescence parameters investigated. A sexual dimorphism was clearly shown in spring regardless of site conditions with a higher photosynthesis activity for female individuals. Hence, in addition to the ability of female plants to delay older leaves senescence, changes in PSII photochemistry are also involved. Integrated over the year, the maximal quantum efficiency of PSII indicated a female-biased sex-ratio (0.79 and 0.81 for males and females, respectively). Our findings of a correlation between total chlorophyll contents and the ratio Fv/Fm suggest possible functional ecology studies on a large scale through light reflectance analysis.

Acknowledgments. The authors gratefully acknowledge the French and Algerian Inter-University Cooperation that has funded this work.

Additional information

Fig. 48. Typical response curves of actual PSII efficiency to light intensity (Φ_{PSII}) in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during spring. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $d<c<b<a$.

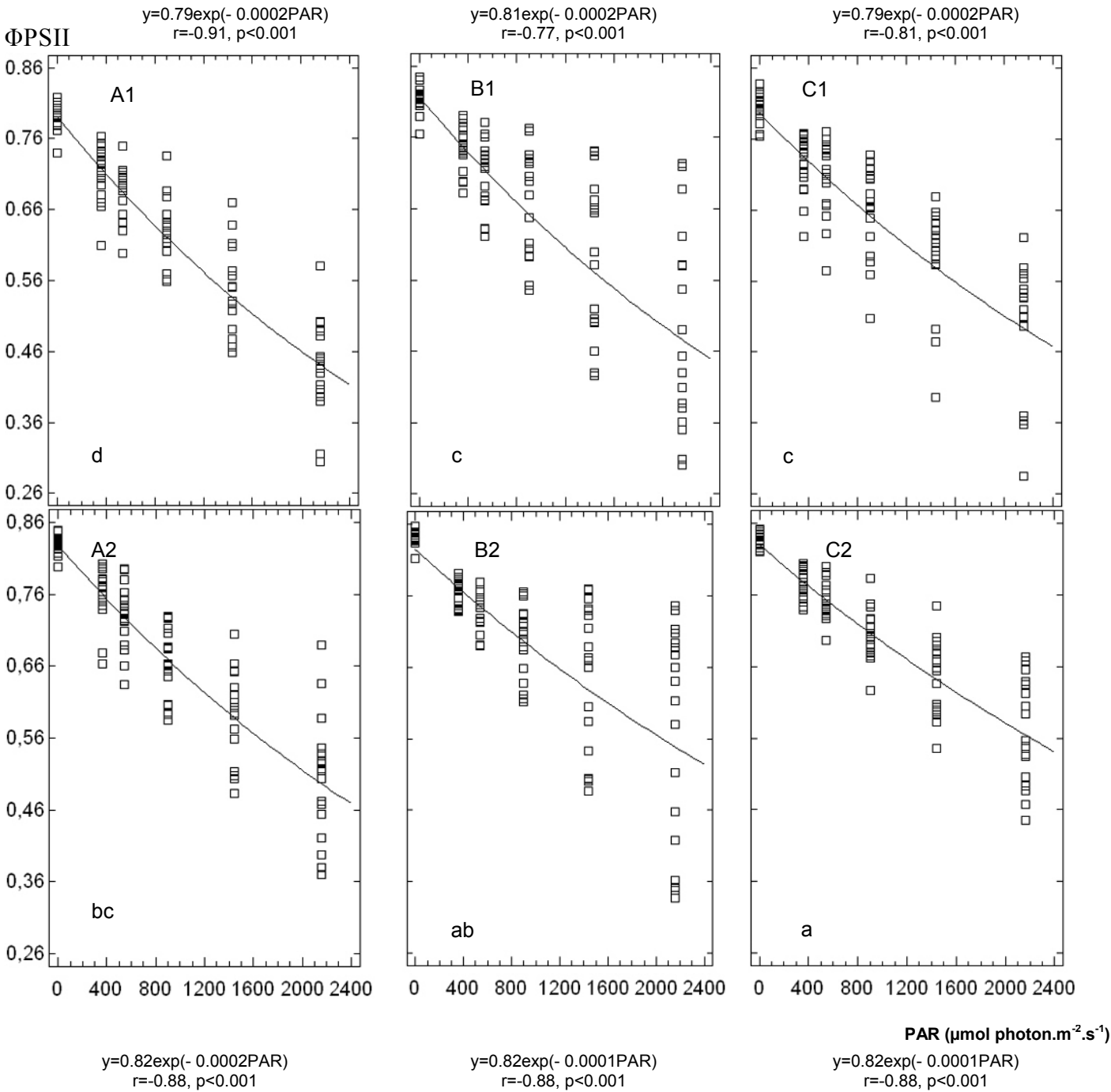


Fig. 49. Typical response curves of the photochemical quenching coefficient (qP) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during spring. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $c<b<a$.

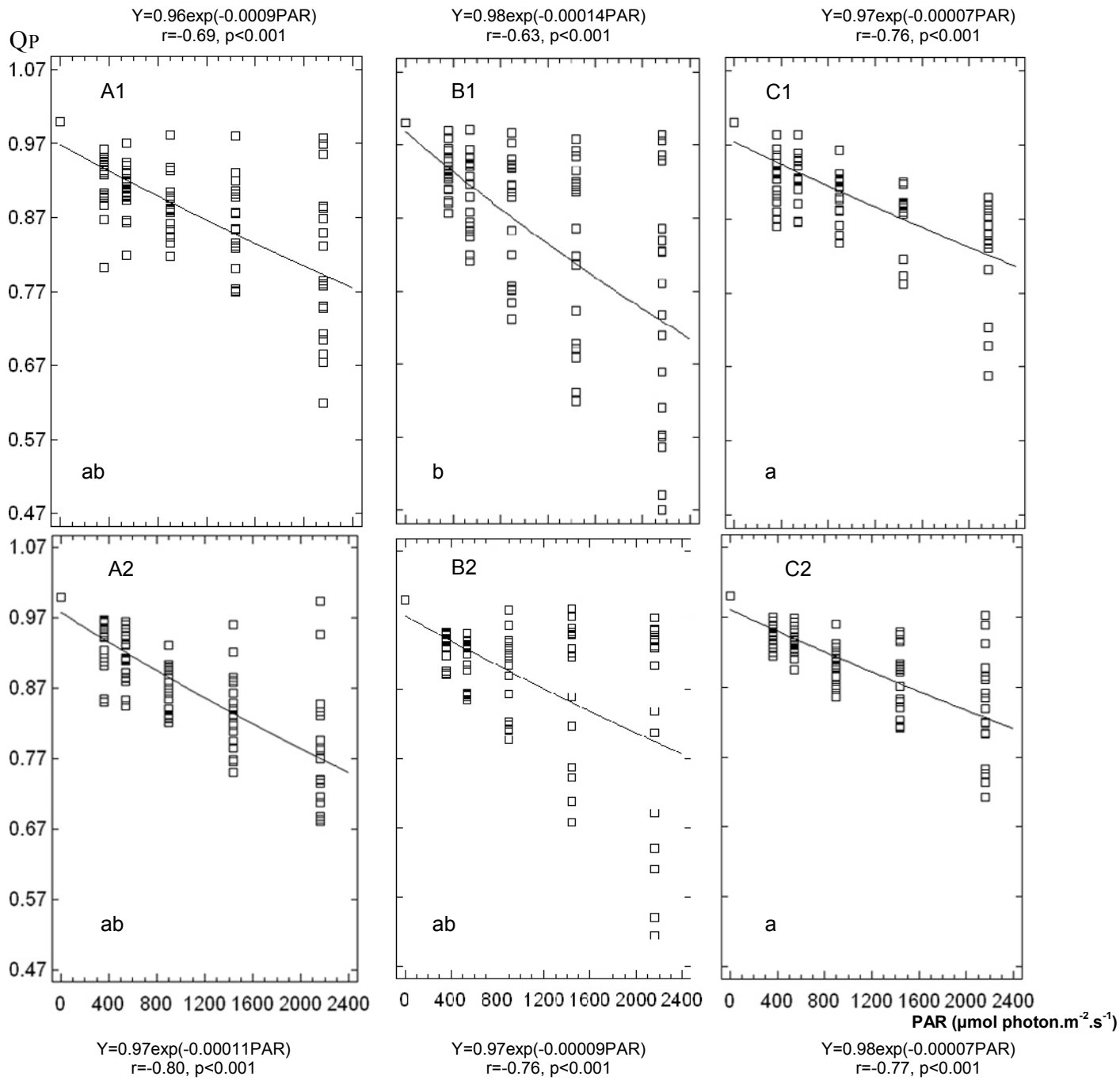


Fig. 50. Typical response curves of the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during spring. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $b<a$.

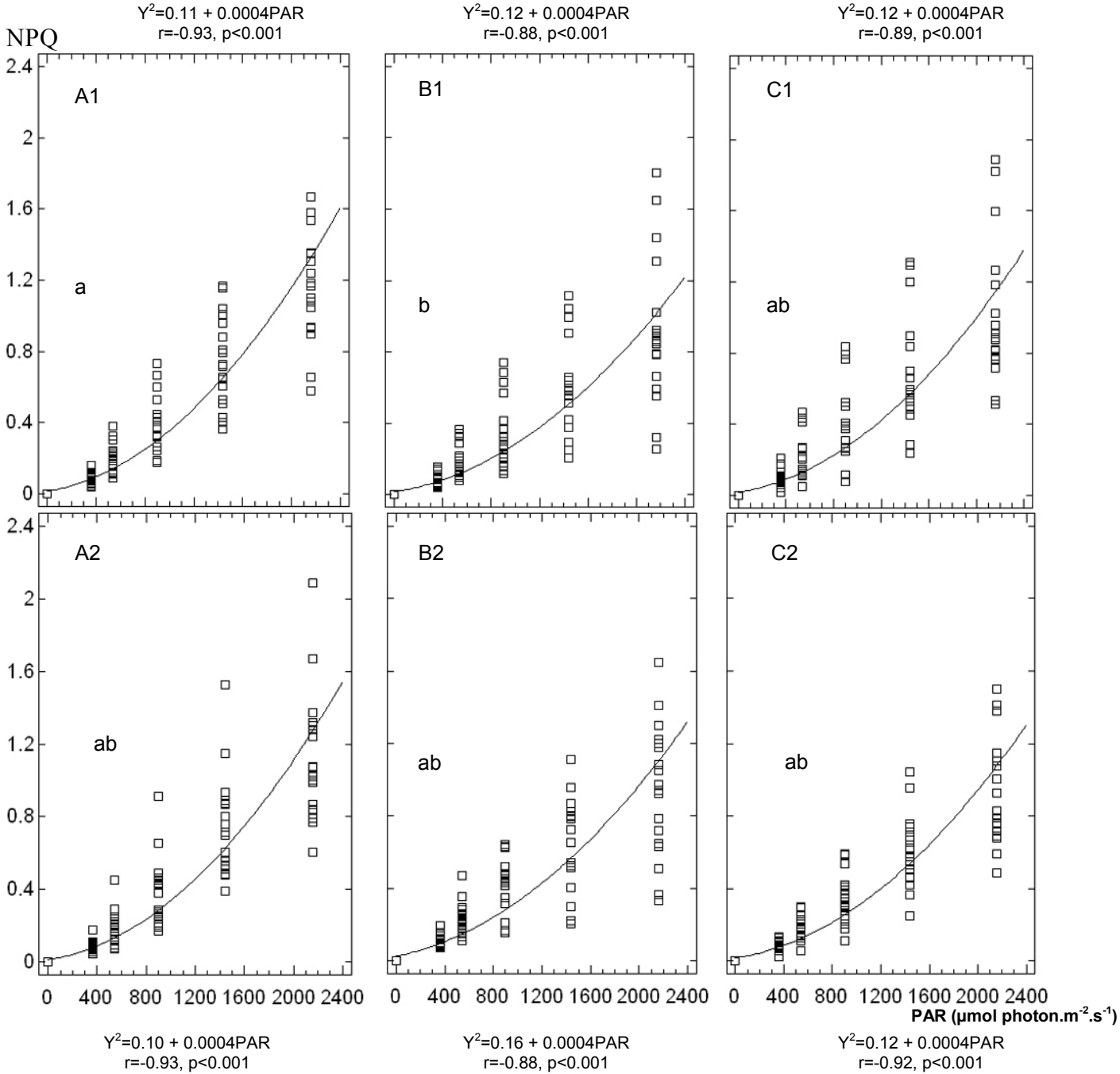


Fig. 51. Typical response curves of actual PSII efficiency to light intensity (Φ_{PSII}) in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during summer. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $b<a$.

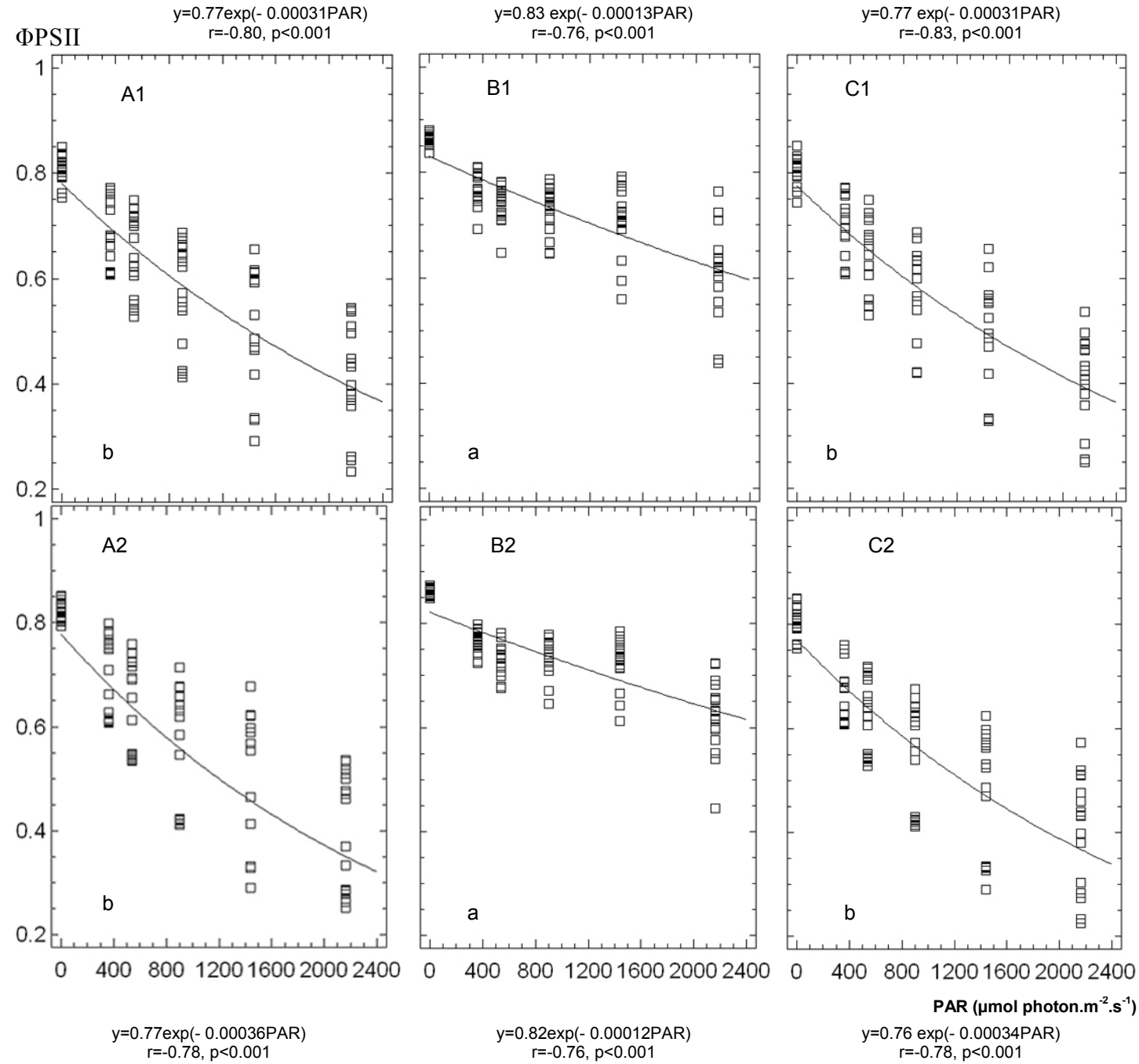


Fig. 52. Typical response curves of the photochemical quenching coefficient (qP) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during summer. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: $c < b < a$.

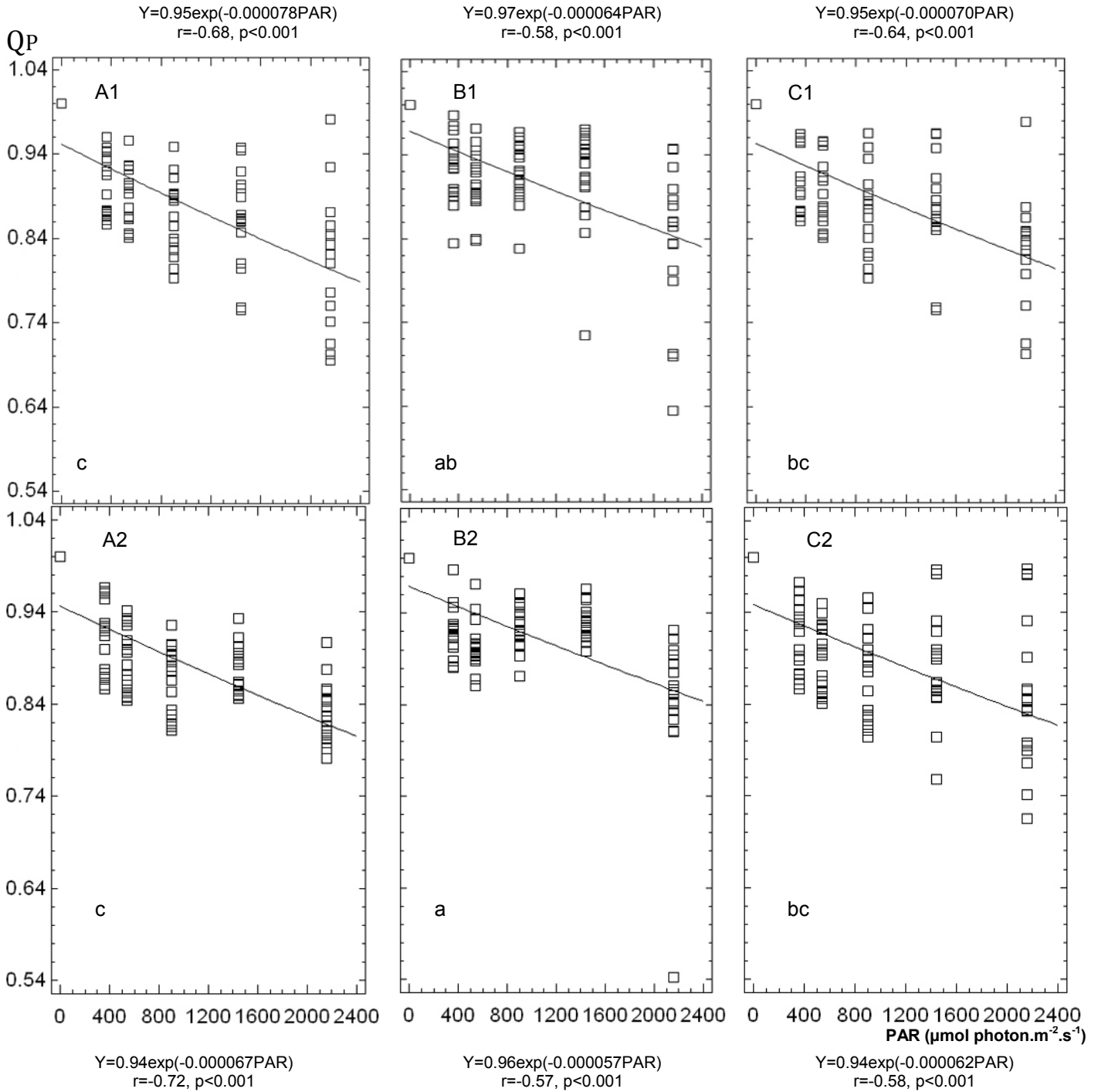


Fig. 53. Typical response curves of the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during summer. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: $c < b < a$.

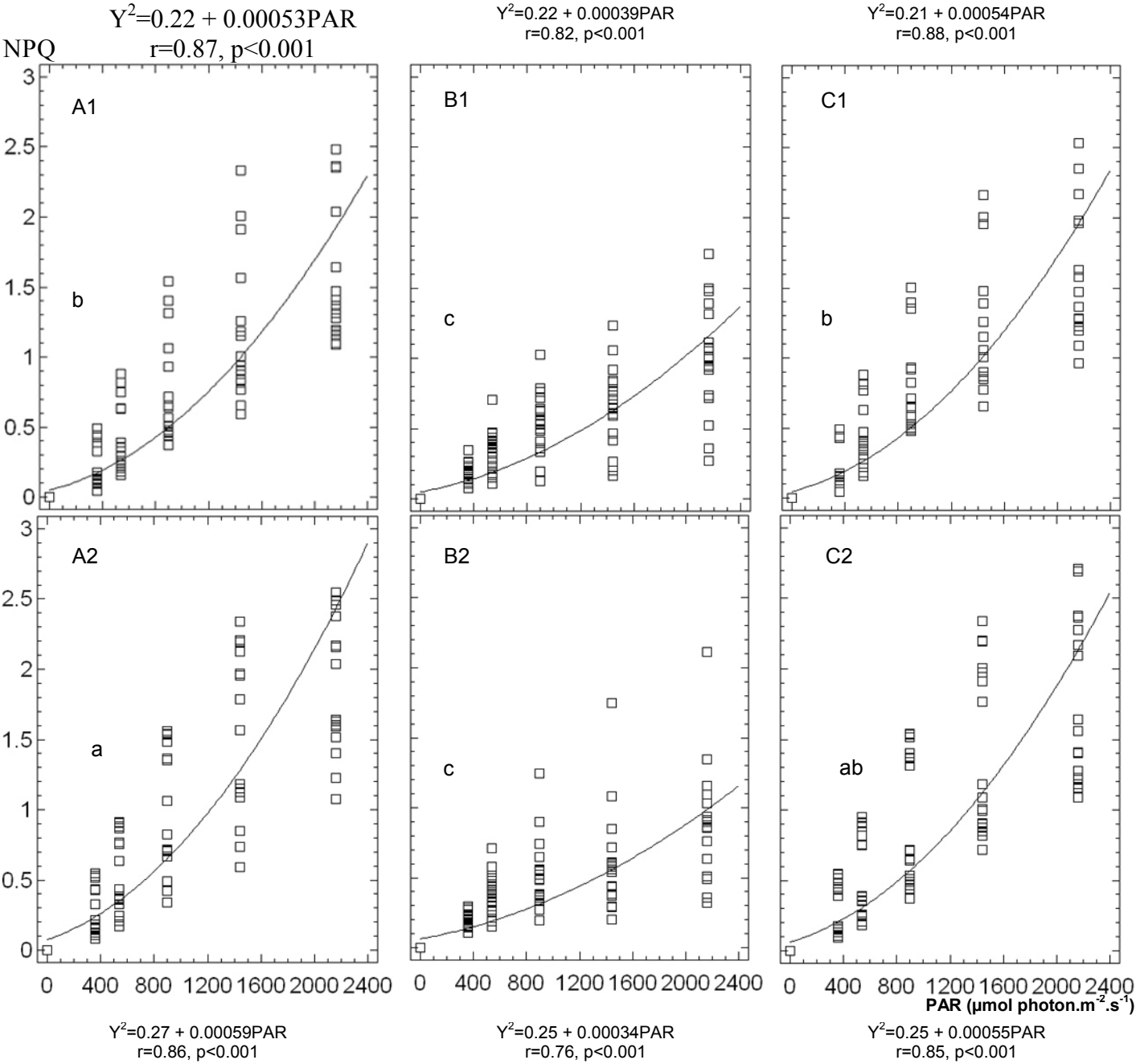


Fig. 54. Typical response curves of actual PSII efficiency to light intensity (Φ_{PSII}) in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during autumn. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P < 0.05$. Significant differences are shown in letters: $c < b < a$.

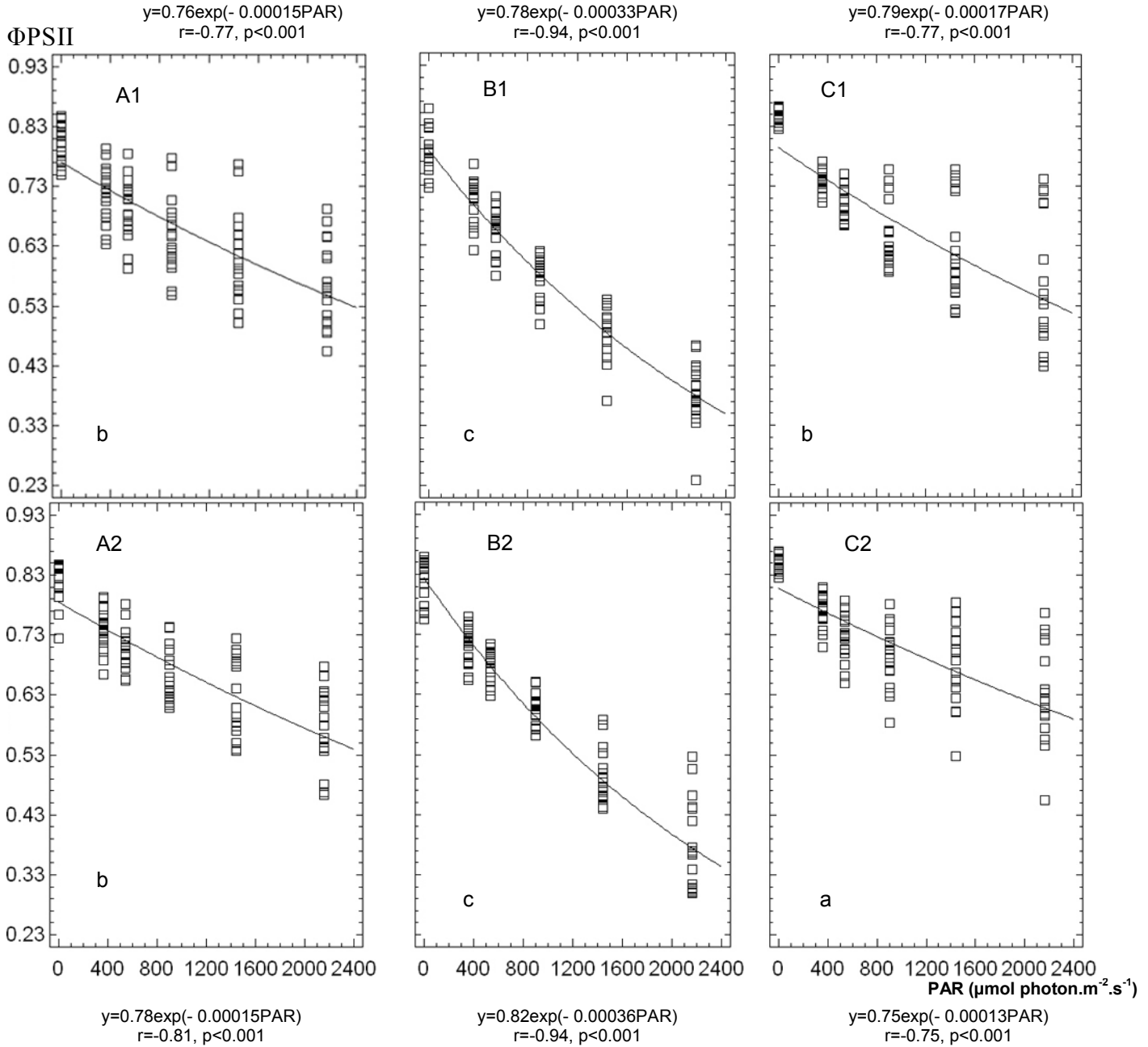


Fig. 55. Typical response curves of the photochemical quenching coefficient (qP) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during autumn. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: $b < a$.

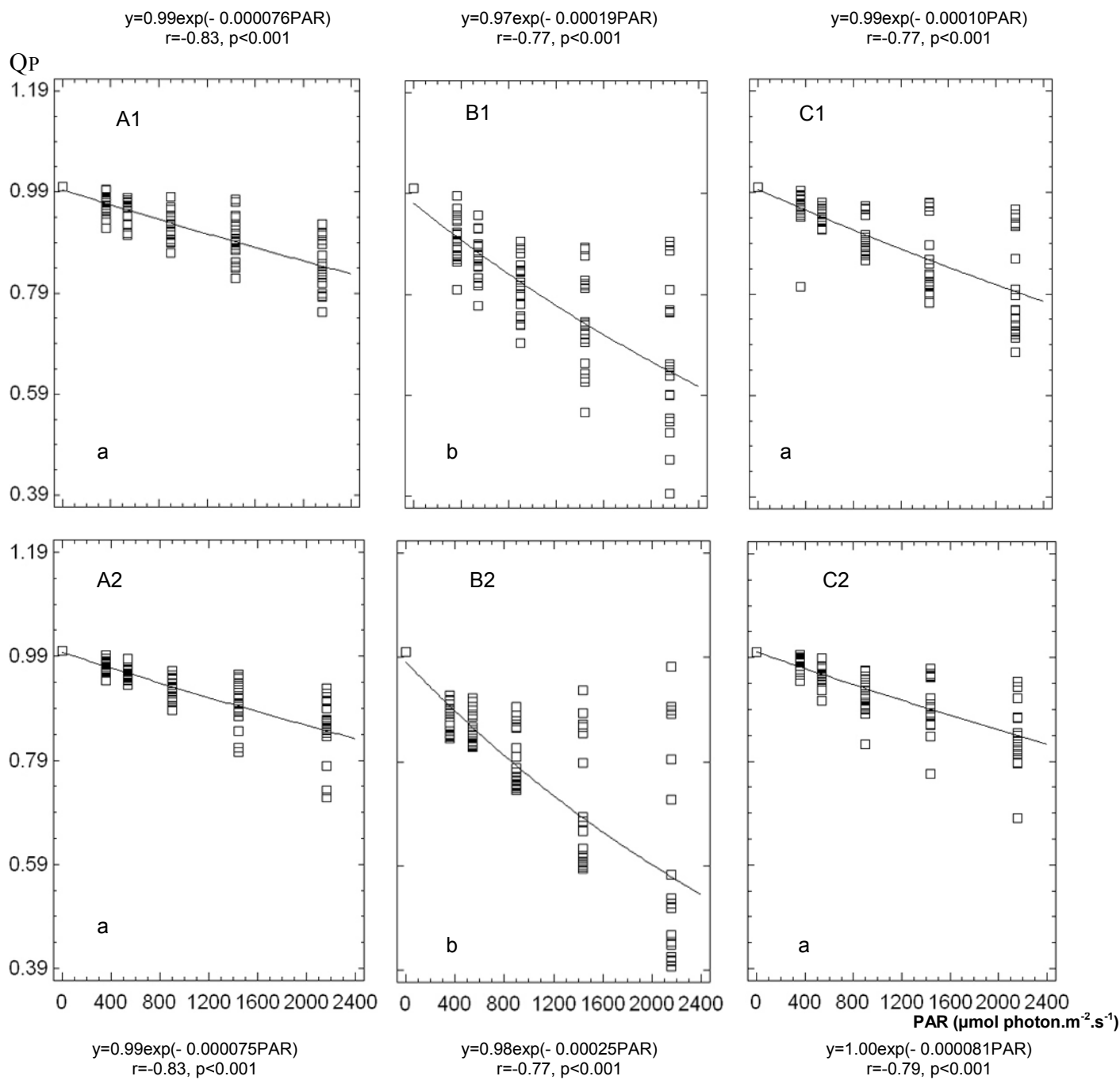
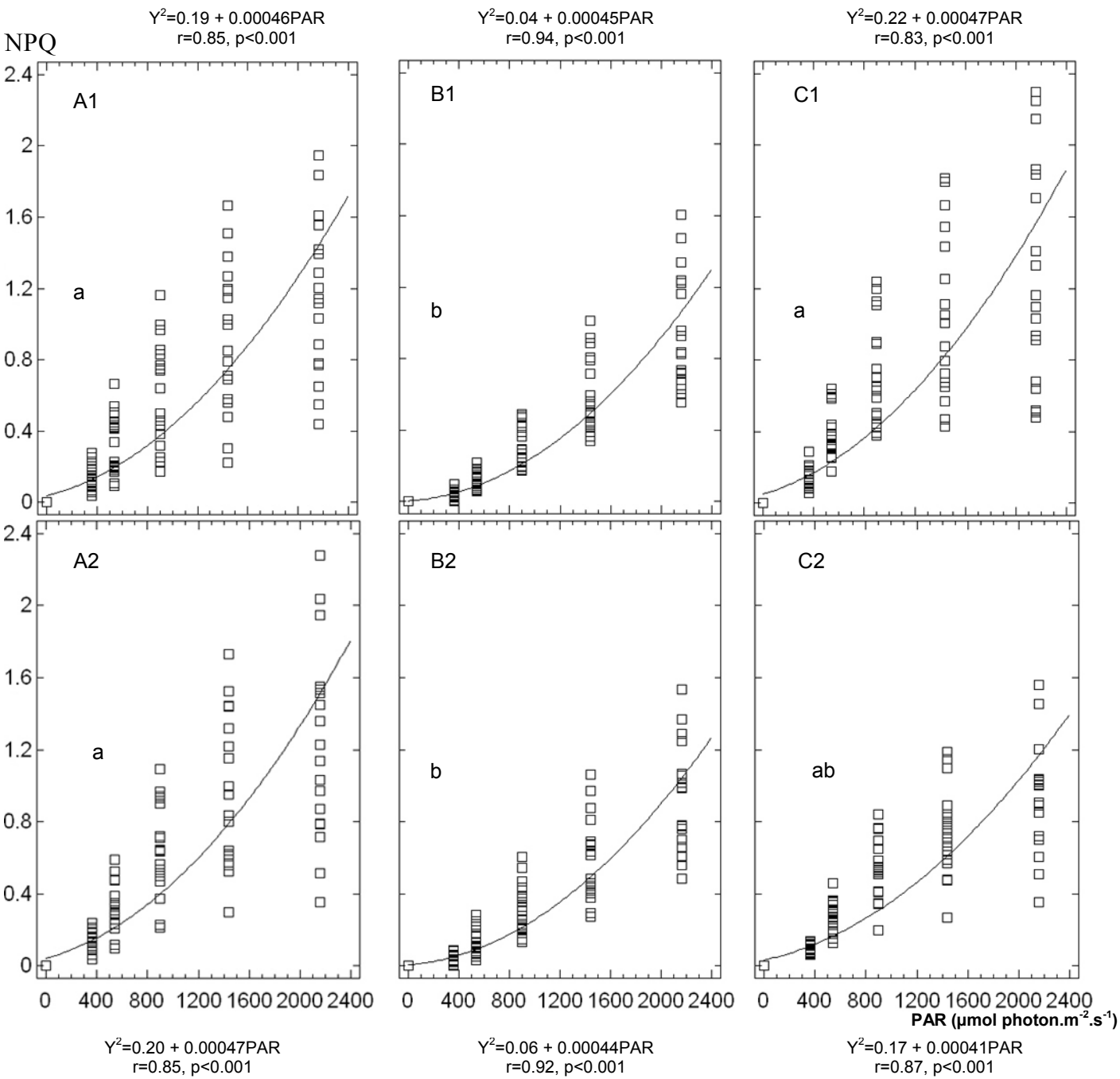


Fig. 56. Typical response curves of the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) to light intensity in predawn leaf of male (1) and female (2) plants of *P. lentiscus* from coastal (A), semi-arid (B) and arid (C) sites during autumn. Difference between site and sex was tested through ANCOVA, $P<0.05$. Significant differences are shown in letters: a.



5. Le stress salin chez les plantules de *Pistacia lentiscus* L. : analyse des échanges gazeux, de la fluorescence de la chlorophylle et d'images en microscopie confocale.

Cette étude fera objet d'un article qui sera soumis après soutenance dans une revue à renommée établie. Titre en anglais : Salt stress in Pistacia lentiscus L. seedlings: gas exchange, chlorophyll fluorescence and confocal microscopy micrographs analysis

Résumé - Le lentisque est l'une des espèces méditerranéennes tolérantes à la salinité. Nous sommes intéressés à l'effet de NaCl (600 mM) sur les paramètres de fluorescence, des échanges gazeux et sur l'imagerie fonctionnelle chez les plantules de lentisque âgées de 10 mois, originaires de Montredon; station maritime située à Marseille. L'étude de la compartimentation de Na⁺ dans les tissus foliaires a aussi été explorée dans ce travail.

Les résultats obtenus à l'aide d'un Li-Cor 6400-40 montrent que le stress salin réduit significativement l'ensemble des paramètres de fluorescence (qp, ETR, ΦPSII et Fv/Fm) et des échanges gazeux (gs, Pn et ΦCO₂). La photosynthèse est inhibée essentiellement par des limitations stomatiques. L'ajout de CaCl₂ améliore nettement les performances photosynthétiques de cette espèce comparées aux plantules testées uniquement avec une solution à NaCl. Les images prises au microscope confocal révèlent que le sodium peut aussi être excrété dans les épidermes ou bien stocké dans les parois de cellules du parenchyme palissadique.

Mots-clés: *P. lentiscus*, salinité, échanges gazeux, fluorescence de la chlorophylle, microscope confocal, CaCl₂.

5.1. Introduction

Dans les régions semi-arides et arides, les végétaux sont exposés aux divers facteurs de stress abiotiques (Ashraf, 2004). Parmi eux, la salinité est l'une des contraintes environnementales majeures (Han *et al.*, 2010) qui en réduisant la disponibilité d'eau dans le sol, affecte profondément la physiologie des végétaux et en particulier la photosynthèse ce qui limite par conséquent leur croissance et leur productivité (Flexas *et al.*, 2004; Kanai *et al.*, 2007; Naumann *et al.*, 2007; Munns et Tester, 2008).

Bien que les sols salins contiennent beaucoup de sels à des concentrations élevées, le NaCl domine généralement (Zhang *et al.*, 2010a). Les effets nocifs des conditions salines sur la plupart des espèces sont principalement provoqués par une combinaison de stress osmotique et le stress ionique exercé par le Na⁺ et/ou le Cl⁻ (Tavakkoli *et al.*, 2011). Ces éléments sont toxiques pour le métabolisme cellulaire surtout lorsqu'ils sont en forte concentration dans le cytoplasme (Munns et Tester, 2008; Tavakkoli *et al.*, 2010; Teakle et Tyerman, 2010) ce qui serait à l'origine des stress oxydatifs pour la plante (Tounekti *et al.*, 2011). Ces effets sont cependant additionnés en présence de NaCl (Tavakkoli *et al.*, 2011).

La photosynthèse est l'une des fonctions physiologiques la plus inhibée par l'effet de NaCl (Akram *et al.*, 2011). Cette réduction serait due soit aux limitations stomatiques soit à l'inhibition des voies métaboliques ou bien par la combinaison de ces dernières.

Pour faire face à cette contrainte majeure, les végétaux ont développé diverses stratégies physiologiques, parmi lesquelles, nous citons le maintien de l'état hydrique de la plante par la réduction de la transpiration mais aussi par des ajustements de leurs appareils photosynthétiques. Aussi, la séquestration des ions dans la vacuole ou dans d'autres organes d'excrétion atténue considérablement l'effet de ces sels dans la cellule.

Le lentisque est l'une des espèces méditerranéennes, sempervirentes la plus tolérante aussi bien à l'aridité (Vilagrosa *et al.*, 2003; Tattini *et al.*, 2006; Ozturk *et al.*, 2010) qu'à la salinité (Armas et Pugnaire, 2009; Barazani et Golan-Goldhirsh, 2009). C'est une espèce très recommandée dans les reboisements des zones arides (Cortina *et al.*, 2008). L'étude écophysio-logique des plantules de cette espèce permettrait de faciliter le choix des génotypes les plus résistants à la salinité.

Nous sommes focalisés dans ce travail sur l'effet du NaCl sur la physiologie des plantules de lentisque à travers les paramètres de fluorescence chlorophyllienne et des échanges gazeux. Ces plantules sont originaires de Montredon, station littorale aux environs de la ville de Marseille. Aussi, l'étude de la compartimentation du sodium dans la feuille de plantule a été explorée dans ce travail.

5.2. Matériel et méthodes

5.2.1. Germination des graines

Nous avons récolté des graines de lentisque au stade de maturation au mois de décembre 2008 à Montredon, station littorale en France. Une fois séchées à l'air libre pendant 10 jours, ces graines sont conservées au réfrigérateur (-2°C). Elles sont mises (sans subir de scarification mécanique) à germer pendant 25 jours (mois de mars) dans des boîtes de Pétri bien stérilisées à l'alcool. Des plantules au stade d'une seule foliole sont transplantées dans des pots contenant du sable (2/3) et de la tourbe (1/3) et laissées croître dans une chambre de culture de l'université de Provence dont les conditions sont : température 25°C , le photopériodisme fixé à 11/13h et une radiation lumineuse de $500\text{ }\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{ s}^{-1}$.

5.2.2. Plantules de lentisque testées au stress salin

16 plantules de *P. lentiscus* âgées de 10 mois, ayant pratiquement la même taille, issues de la germination de graines en provenance de la station littorale de Montredon sont soumises au stress salin. Ainsi, elles sont réparties en quatre lots contenant chacun 4 plantules. Quatre modalités d'arrosage sont appliquées (250 ml par application) : avec de l'eau du robinet pour le premier lot témoin, NaCl additionné avec du CaCl_2 pour le second lot, NaCl pour le troisième lot et enfin nous avons arrosé les plantules du dernier lot avec du CaCl_2 . 3 jours après, nous avons procédé à l'arrosage des plantules des trois derniers lots avec NaCl pendant 12 jours, à raison d'un arrosage chaque 3 jours. Les concentrations des sels utilisés pour chaque modalité sont : $[\text{NaCl}] = 300\text{ mM}$ et $[\text{CaCl}_2] = 10\text{ mM}$. L'arrosage avec du CaCl_2 est réalisé dans le but de prévoir le comportement écophysio-logique de cette espèce dans un sol calcaire.

5.2.3. Mesures des échanges gazeux et de la fluorescence chlorophyllienne

Les plantules de *P. lentiscus* qui sont soumises au stress salin ont fait objet de mesures des échanges gazeux couplées à celles des mesures de la fluorescence de la chlorophylle foliaire. 24 heures après chaque arrosage avec une solution de NaCl et pour chaque modalité utilisée, 3 mesures par plantule de la conductance stomatique (gs), efficacité réelle de l'utilisation de la lumière (Φ PSII), rendement quantique de la réduction du CO_2 (ΦCO_2) et (Pn) et le pourcentage des centres réactionnels des photosystèmes qui sont à l'état ouvert (qP) sont réalisées.

Ces mesures sont réalisées à l'aide d'un Li-COR 6400 XT U.S.A. équipé d'une chambre de fluorescence. Les capteurs de mesures sont deux IRGA (Infra Red Gas Analyser) affectés l'un à l'air de référence, l'autre à l'air soumis à l'échantillon. Ces IRGA sont à proximité immédiate avec la chambre de mesure qui se trouvent réunies dans la même pièce.

Durant les mesures, le CO_2 , la température de l'air et l'humidité relative dans la chambre de mesures sont maintenus à $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ et 25°C et 70% respectivement. Le niveau de PAR est fixé à $500 \mu\text{mol/Photons/m}^2/\text{s}$.

Les mesures ne sont réalisées que lorsque la conductance stomatique et l'assimilation du CO_2 sont stables. Il est important de procéder au contrôle de l'étalonnage des IRGA, de l'efficacité des pièges et de l'étanchéité du système avant toute mesure.

5.2.4. Observation des coupes de feuilles de lentisque soumis au stress salin en microscopie confocale

Des plantules de lentisque âgées de 10 mois sont arrosées avec une solution de NaCl à 600 mM pendant une semaine à raison d'un seul arrosage chaque deux jours. Au bout du 10^{ème} jour du stress, nous avons procédé à des coupes très fines au niveau de la partie centrale du limbe des folioles et ce à raison de 3 coupes par feuilles et par plantule. Ces coupes sont trempées à l'ombre pendant 10 heures dans 2 ml de solution contenant $132 \mu\text{l}$ de l'ionophore SBFI (Tetraammonium salt) + $16 \mu\text{l}$ de Pluronic F-127 + $1852 \mu\text{l}$ tampon HEPES à pH = 7.5. Cette solution est répartie sur plusieurs vials pour contenir et séparer les différentes coupes.

Ces coupes sont abondamment rincées, puis montées dans une goutte de tampon HEPES, entre lame et lamelle et observées au microscope confocal (LSM 710, ZEISS, Objectif inversé, grossissements oculaires = 10x23, grossissements objectifs = 10x, 20x, 40x, 63x et 100x) de l'université de Provence. La raie d'excitation laser est de 480 nm et le signal d'émission de la fluorescence de l'ionophore est de 515 nm. Les images en mode LSM sont analysées par déconvolution des différents spectres d'émission : autofluorescence et fluorescence spécifique de l'ionophore.

4.2.5. Analyses statistiques

Les données des échanges gazeux et de la fluorescence chlorophyllienne sont analysées par une Anova à une seule ou à deux variable(s). Le test de Newman-Keuls est utilisé en vue de tester la significativité des différences des variables mesurées entre les quatre modalités de

lentisque étudiées. Ces analyses sont réalisées à l'aide d'un logiciel R (R Development Core Team, 2009), en se servant du package agricolae (De Mendiburu, 2010).

5.3. Résultats et Discussions

L'arrosage répété des plantules du lentisque avec NaCl (dont la concentration est la moitié de celle de l'eau de mer) ne révèle aucun signe visible de stress salin sur leurs parties aériennes des plantules. Cependant, il affecte aussi bien la phase claire que la phase obscure de la photosynthèse ce qui corrobore avec les résultats obtenus par Wang *et al.* (2007) chez les plantules *Populus popularis*.

Les résultats de l'analyse de la variance à deux facteurs montrent un effet significatif de chacun des facteurs salinité et durée de stress sur l'ensemble des paramètres mesurés chez les plantules de lentisque (**Tab. 12**)

Tab. 12. Analyse de variance (Test d'Anova à deux variables, 5%) des différents paramètres physiologiques étudiés chez les plantules de lentisque.

	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>Sign.</i>		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>Sign.</i>
Pn				ΦCO₂			
salinité	31.450	2.4210 ⁻¹²	***	salinité	3.3710 ⁺⁰¹	6.6810 ⁻¹³	***
durée	6.921	0.000	***	durée	9.3010 ⁺⁰⁰	6.4710 ⁻⁰⁶	***
salinité: durée	1.722	0.084	.	salinité: durée	1.8910 ⁺⁰⁰	0.054	.
Résiduels				Résiduels			
gs				qP			
salinité	13.276	9.4210 ⁻⁰⁷	***	salinité	3.634	0.018	*
durée	41.668	2.2010 ⁻¹⁶	***	durée	3.836	0.008	**
salinité: durée	1.769	0.074	.	salinité: durée	0.916	0.537	
Résiduels				Résiduels			
ΦPSII				ETR			
salinité	4.1782	0.009	**	salinité	4.152	0.009	**
durée	4.779	0.002	**	durée	5.4427	0.000	***
salinité: durée	0.758	0.690		salinité: durée	0.8931	0.558	
Résiduels				Résiduels			

L'effet de la première application du stress salin entraîne la réduction de tous les paramètres physiologiques mesurés. Au delà de ce stade, les cinétiques sont différentes selon la modalité et le temps de stress comparés aux plantules traitées initialement avec NaCl (**Fig 57 et 59**).

A l'exception des variables ΦPSII, ETR et *qP* ($P > 0.05$), des différences significatives de la photosynthèse, le rendement quantique de la réduction du CO₂ et la conductance stomatique sont enregistrées entre les 4 modalités à la fin du stress salin auquel les plantules du lentisque sont soumises. Les moyennes les plus élevées sont en faveurs du lot témoin et le lot traité au préalable avec du CaCl₂ comparé au lot arrosé initialement avec le NaCl dont les valeurs moyennes sont les plus faibles (**Tab. 13**).

Tab. 13. Analyse de variance (Test d'Anova à une variable, 5%) entre les quatre modalités à la fin du stress salin.

Facteurs	<i>F</i>	<i>P</i>	Sign.
Pn			
Modalité	8.857	0.002	**
Résiduels			
gs			
Modalité	4.244	0.029	*
Résiduels			
qP			
Modalité	1.325	0.312	N.S
Résiduels			
ΦCO₂			
Modalité	21.412	4.1510 ⁻⁰⁵	**
Résiduels			
ΦPSII			
Modalité	1.396	0.292	N.S
Résiduels			
ETR			
Modalité	1.400	0.291	N.S
Résiduels			

Les premières réponses du lentisque à la salinité se manifestent par une baisse rapide de la conductance stomatique suite à la fermeture des stomates (**Fig. 57A**). Cette stratégie qui consiste à réduire la perte d'eau vers l'atmosphère est très commune aux nombreuses espèces qui sont soumises au stress hydrique comme c'est le cas de *Eucalyptus globulus* (Francesco et Sebastiano, 2000); *Phaseolus vulgaris* (Flexas *et al.*, 2004); *Ipomoea batatas* Lam. (Haimeirong et Kubota, 2003), *Fagus crenata* (Lio *et al.*, 2004) ou chez *Helianthus annuus* (Cechin *et al.*, 2006). En fermant ses stomates, il y a réduction de la quantité de CO₂ dans les sites de carboxylation (de Souza *et al.*, 2001 in Suresh *et al.*, 2010; Siti Aishah *et al.*, 2011) ce qui limite par conséquent la photosynthèse (**Fig. 57B**) et le rendement quantique de la réduction du CO₂ (**Fig. 57C**). Cette réduction de la photosynthèse par des limitations stomatiques fut aussi décrite chez d'autres espèces notamment chez *Ipomoea batatas* Lam (Haimeirong et Kubota, 2003) et *P. latifolia* (Ogaya et Peñuelas, 2003) soumises au stress hydrique ou chez *Olea europaea* (Tattini *et al.*, 1997), *Bienertia sinuspersici* (Leisner *et al.*, 2010), *Phoenix dactylifera* (Youssef et Awad, 2008), *Atriplex portulacoides* (Redondo-Gómez *et al.*, 2007), *Populus euphratica* (Wang *et al.*, 2007), *Glaucium avum* (Cambrollé *et al.*, 2010), *Zea mays* (Akram *et al.*, 2011), *Phragmites australis* (Gorai *et al.*, 2011), *Spartina argentinensis* (Redondo-Gómez *et al.*, 2011) ou chez *Hordeum vulgare* (Tavakkoli *et al.*, 2011) vivants en conditions de stress salin.

La fermeture des stomates entraînent une augmentation de la température interne de la feuille, l'augmentation de temps à autre de la conductance stomatique après les premiers traitements en sel aurait certainement un intérêt dans le refroidissement de la plante en dégageant l'excès de chaleur par la transpiration (Fleck *et al.*, 1995).

En plus de cette limitation stomatique, la réduction de la photosynthèse serait probablement due en partie à une limitation du mésophylle à la conductance du dioxyde de carbone, comme c'est le cas de *Solanum lycopersicum* (Galmés *et al.*, 2011) ou *Beta vulgaris* (Sagardoy *et al.*, 2010). Il est à signaler, que le plus souvent cette conductance du mésophylle pour le CO₂ est variable en fonction des changements des conditions environnementales telles que la sécheresse (Flexas *et al.*, 2008; Waren, 2008). Ainsi, les plantes adaptées à la sécheresse ont souvent une conductance mésophyllienne faible ce qui réduit d'avantage la concentration de CO₂ dans les sites de carboxylation (Flexas *et al.*, 2008).

L'ETR peut être comparé au taux de CO₂ assimilé puisque 4 électrons sont nécessaires pour réduire une molécule de CO₂. Nous avons enregistré une faible corrélation entre Pn et l'ETR ($r=0.4$) (**Fig. 58**) chez le lentisque soumis au stress salin. Ainsi, une grande partie de l'énergie qui découle du transfert d'électrons à travers la membrane thylakoïdienne est utilisée dans d'autres fonctions autres que la réduction carbonée telle la photorespiration. Cette dernière, permet de protéger les appareils photosynthétiques contre la photoinhibition en consommant l'excès de l'énergie incidente non utilisée et non plus dissipée par la plante. La même voie de protection fut aussi décrite chez *Quercus ilex* (Fillela *et al.*, 1998), *Solanum lycopersicum* (Haupt-Herting et Fock, 2002) et *Reaumuria soongorica* (Bai *et al.*, 2008) vivants en situation de stress hydrique.

La réduction de l'ETR (**Fig. 59A**) et Φ PSII (**Fig. 59B**) avec la durée du stress salin, serait due à la fermeture des centres réactionnels à l'état ouvert (**Fig. 59C**) ou à la réduction de la capture de photons par réduction de la taille des antennes collectrices. Les centres réactionnels sont les sites de conversion de l'énergie photonique, captée par les pigments des antennes collectrices, en énergie chimique générée par un transfert d'électrons le long de transporteurs spécifiques (Foyer *et al.*, 1990). Ces électrons servent finalement à la réduction de dioxyde de carbone dans le cycle de Calvin. Lorsque le taux de CO₂ est réduit par la fermeture stomatique et ce en réponse au stress hydrique, l'oxygène peut servir d'accepteur final des d'électrons par une phosphorylation pseudocyclique (Foyer *et al.*, 1994) ce qui est à l'origine de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). La fermeture des centres réactionnels serait donc une stratégie efficace pour la protection de l'appareil photosynthétique contre une éventuelle photooxydation chez le lentisque vivant en condition de stress hydrique.

Le prétraitement des plantules du lentisque avec CaCl₂ avant qu'elles ne subissent le stress salin diminue nettement les effets inhibiteurs du NaCl sur les paramètres photosynthétiques comparés aux plantules traitées uniquement avec du NaCl. Les mêmes résultats sont obtenus chez *P. latifolia* en saison estivale (Ogaya et Peñuelas, 2003) ou chez la même espèce (Tattini et Traversi, 2008) et chez le fraisier (Khayyat *et al.*, 2011) en réponse à la salinité. Cependant, d'après ces derniers auteurs, ces effets positifs du chlorure de calcium sont moins importants que ceux provoqués par le sulfate de calcium. Ces effets bénéfique de CaCl₂ sont essentiellement dus au Ca²⁺ qui est un cation bivalent essentiel dans la croissance et le développement du végétal (White et Broadley, 2003) et joue un rôle dans la structure des membranes et parois cellulaires (Martínez-Ballesta *et al.*, 2008; Ding *et al.*, 2010). Il est par excellence, un messenger secondaire intracellulaire lors d'un stress (White et Broadley, 2003; McAinsh et Pittman, 2009; Dodd *et al.*, 2010) assurant un rôle de protection contre les stress oxydatifs (White et Broadley, 2003). Dans certains cas, il facilite l'adaptation des plantes à la salinité en stimulant la synthèse des glandes de sécrétion des sels dans les feuilles comme c'est le cas chez *Limonium bicolor* (Ding *et al.*, 2010).

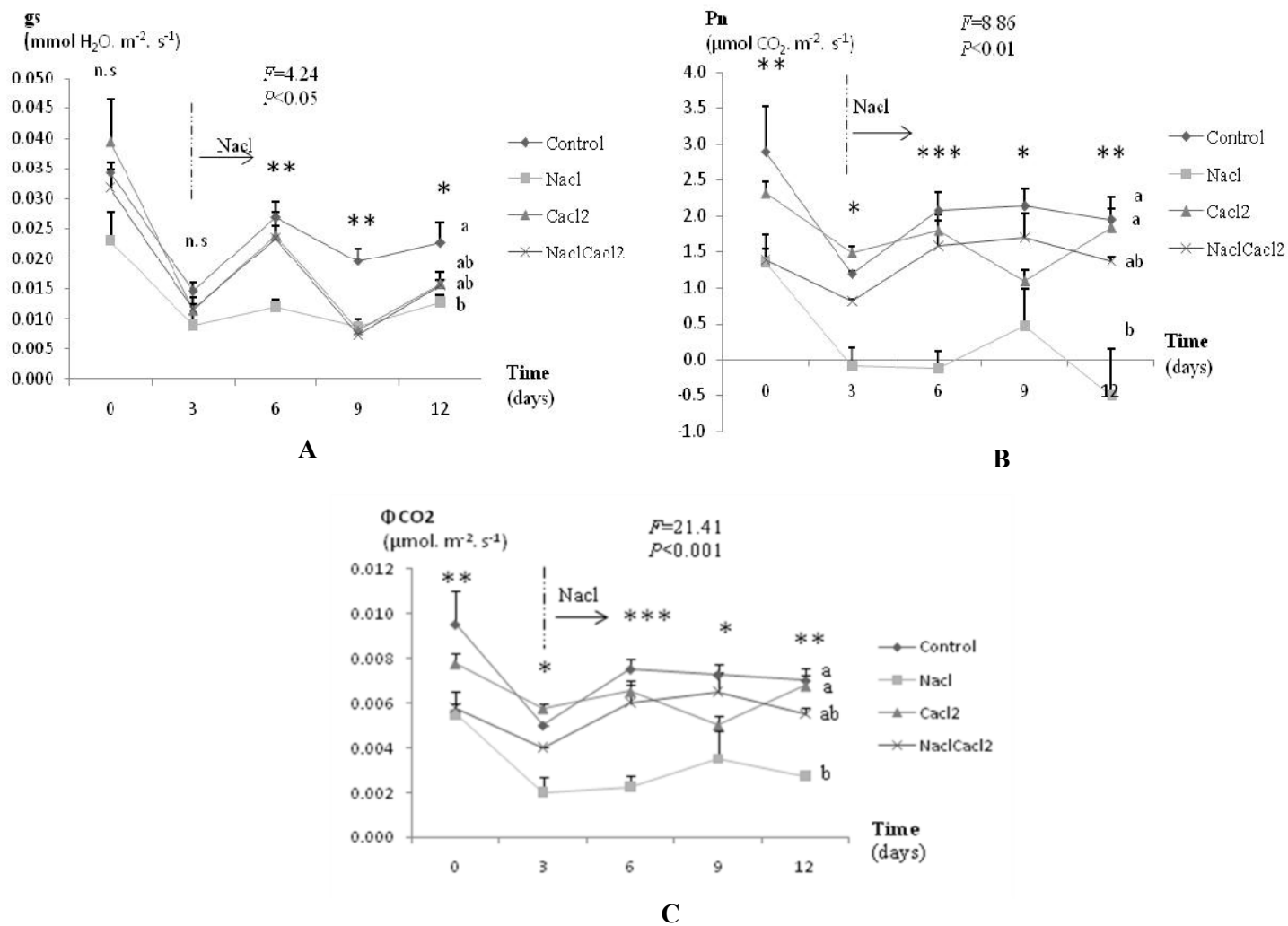


Fig. 57. Effet du stress salin (NaCl) sur les plantules de *Pistacia lentiscus*. **A:** conductance stomatique, **B:** photosynthèse et **C:** rendement quantique de la réduction du CO_2

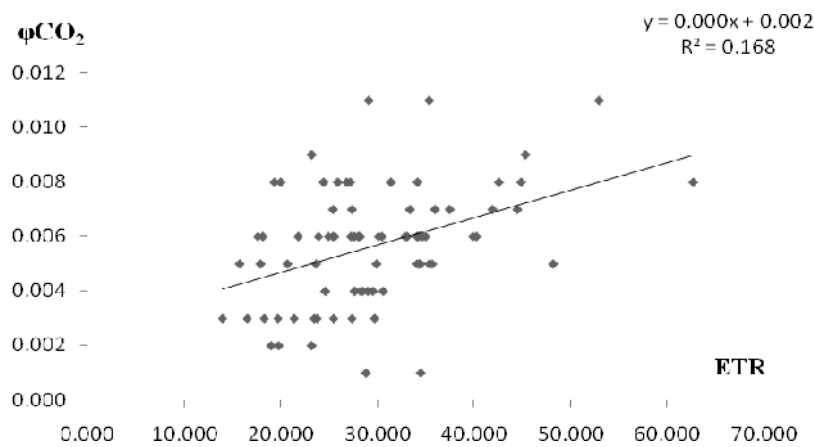


Fig. 58. Courbe de corrélation entre le rendement quantique de la réduction du CO_2 et le taux de transfert d'électrons.

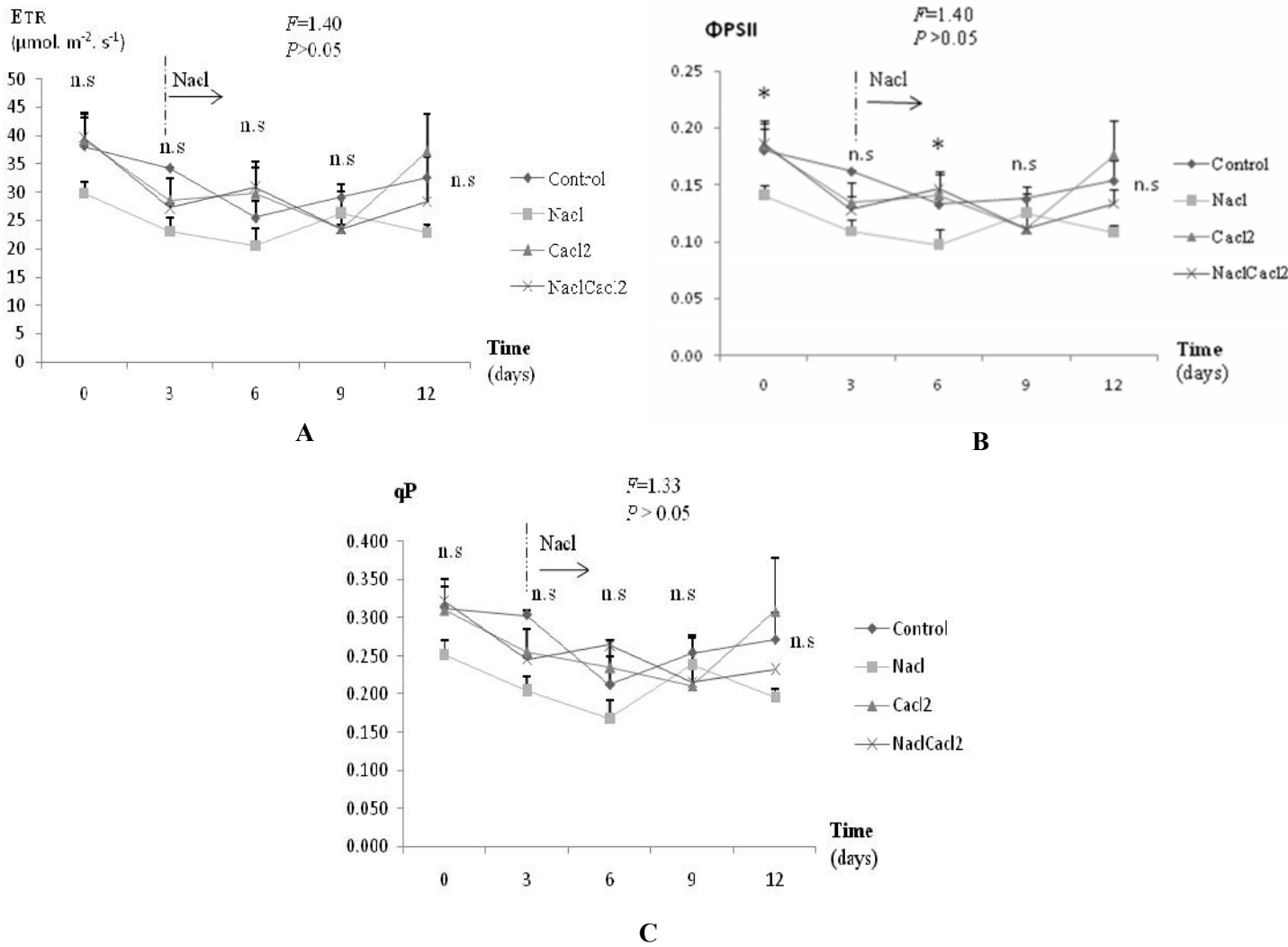


Fig. 59. Cinétiques des paramètres de fluorescence de la chlorophylle, **A**: taux de transfert des électrons, **B**: efficacité réelle de l'utilisation de la lumière et **C**: pourcentage des centres réactionnels à l'état ouvert en fonction de la modalité et la durée de stress salin.

La tolérance des plantes à la salinité est dépendante de l'âge. Les résultats obtenus ne peuvent pas être généralisés à des arbustes âgés étant donné que les plantules sont plus sensibles à la salinité que les arbres matures comme l'ont souligné Youssef et Awad (2008).

La tolérance à la salinité chez de nombreuses espèces est fortement corrélée à l'exclusion du sel en dehors des organes végétatifs (Munns et James, 2003; Läuchli *et al.*, 2008; Munns et Tester, 2008). En raison de l'absence d'organes d'excrétion du sel dans la feuille (Pignatti, 1997 in Tattini et Traversi, 2008), le lentisque, à l'image de plusieurs autres espèces séquestre efficacement le Na^+ dans la vacuole (Munns, 2002; M'rah *et al.*, 2006) ce qui permet de réduire la toxicité du cytoplasme par ces ions.

Les résultats des images fonctionnelles faites au microscope confocal révèlent que le sodium absorbé par les racines est transporté à travers les tissus conducteurs (**Fig. 60A**) pour être concentré dans les feuilles. En plus de sa séquestration dans la vacuole, le sodium peut être

aussi stocké dans les cellules épidermiques (**Fig. 60B**) comme c'est le cas chez *Durum wheat* (Läuchli *et al.*, 2008) mais aussi dans les parois des cellules du parenchyme palissadique (**Fig. 60C**).

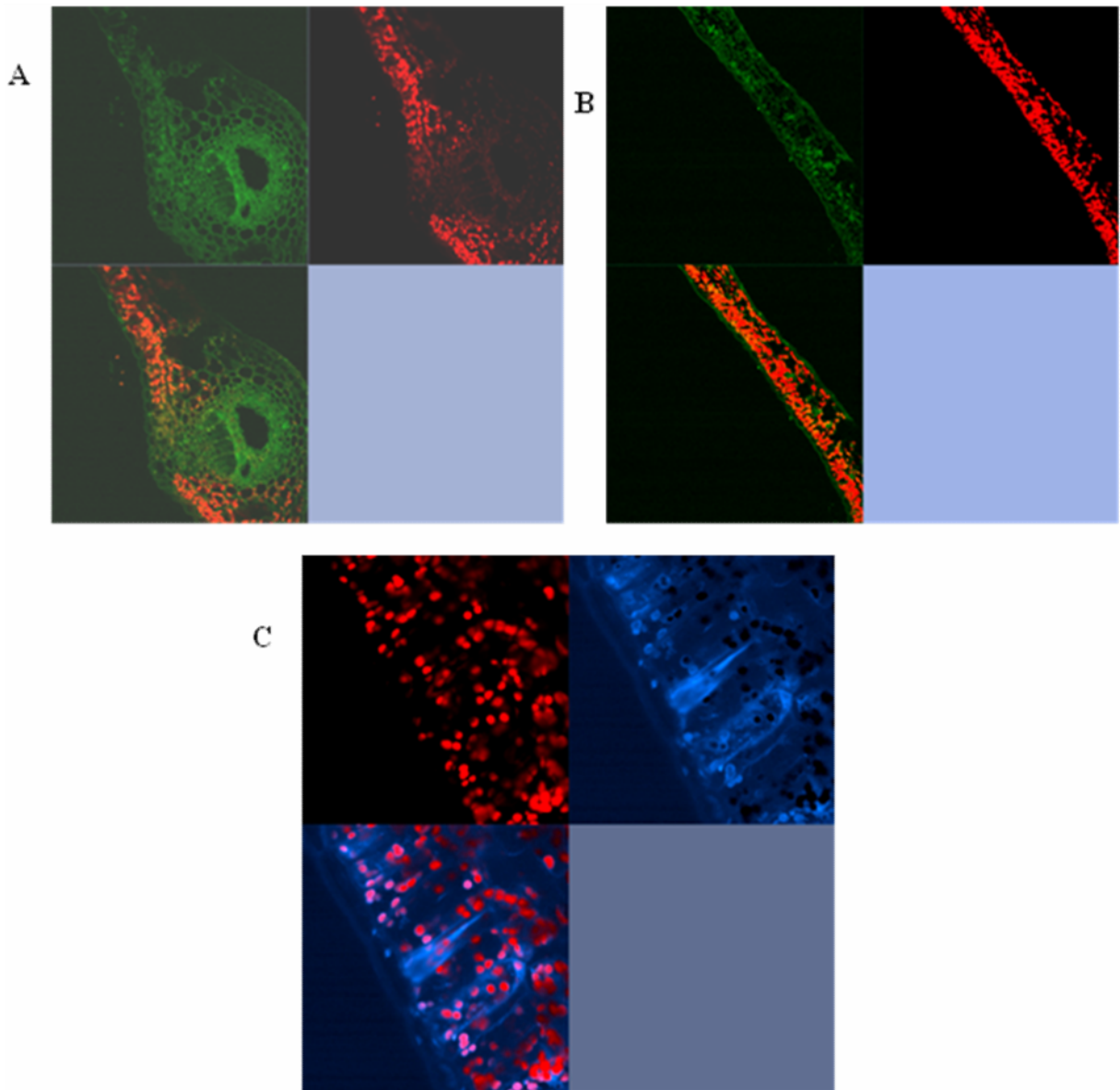


Fig. 60. Observations des coupes de feuilles de lentisque traitées avec NaCl (600mM) au microscope confocal

Conclusion

Les plantules de lentisque sont très résistantes à la salinité. Le NaCl réduit à la fois les phases lumineuse et obscure de la photosynthèse. L'adaptation de l'espèce à la salinité s'expliquerait par un bon contrôle stomatique mais aussi par l'exclusion de sodium dans les cellules épidermiques ou son stockage dans les parois cellulaires. Les effets positifs de CaCl_2 sur le comportement écophysio-physiologique des plantules de lentisque face à la salinité prévoient un meilleur comportement de cette espèce dans un sol calcaire.

Chapitre 4

Discussion et Conclusions Générales

L'objectif de cette thèse était de comprendre comment, deux espèces dioïques du genre *Pistacia*, l'une sempervirente (*P. lentiscus* L.) et l'autre à feuilles caduques (*P. atlantica* Desf.) s'adaptent aux conditions d'altitude, de salinité et d'aridité. Pour cela, nous avons procédé par des études morpho-anatomique, phytochimique et écophysiologique.

Dans la première partie, nous avons étudié la variabilité de trois populations algériennes de pistachier de l'Atlas en relation avec la sécheresse. Ces travaux ont été complétés par des études du stress hydrique sur des plantules originaires des stations d'Algérie. Cela a ainsi permis d'identifier d'excellents marqueurs chimiques de l'aridité.

Pour la deuxième partie de ce travail, nous avons mis en évidence la grande variabilité des composés terpéniques chez différentes populations algériennes de lentisque en relation avec les conditions écologiques de l'altitude.

Dans la troisième partie, les travaux ont été réalisés *in situ* et en chambre de culture. Nous avons ainsi étudié en France, la plasticité de l'appareil photosynthétique du lentisque pendant les 4 saisons et dans 3 milieux différents: littoral, semi-aride et aride. Les analyses ont été faites sur la base de la fluorescence de la chlorophylle et des mesures d'échanges gazeux. Des mesures de potentiel hydrique et de teneur en pigments photosynthétiques ont été réalisées en parallèle pour mieux comprendre les mécanismes physiologiques observés. La réponse des plantules à la salinité a été étudiée par des mesures combinées de la fluorescence et des échanges gazeux. Aussi, la compartimentation du sodium intracellulaire a été mise en évidence par des images prises au microscope confocal sur des coupes transversales de feuilles.

1. Modifications morpho-anatomiques des feuilles du pistachier de l'Atlas en réponse à l'aridité

Depuis plusieurs années, les météorologistes constatent des modifications des conditions climatiques à l'échelle mondiale, allant vers un réchauffement de la planète (Christiansen *et al.*, 2007 in Attia, 2007). Ce changement climatique est souvent associé à des conditions de sécheresse estivale prononcée, provoquant un stress hydrique pour les végétaux. On considère généralement que la sécheresse est de loin le facteur climatique qui affecte le plus les caractéristiques des feuilles (XueJun et XinShi, 2002).

La plasticité est définie comme la capacité d'un organisme à ajuster ses performances en altérant sa morphologie et/ou sa physiologie en réponse aux variations des conditions écologiques (Navas and Garnier 2002; Valladares *et al.* 2007). La variabilité des caractères phytodermologique et morphologique du pistachier de l'Atlas en fonction des conditions écologiques en Algérie a été soulignée par Belhadj *et al.* (2007, 2008). Nos travaux ont également montré des ajustements morpho-anatomiques des feuilles en fonction des contraintes du milieu. On peut donc en conclure que *P. atlantica* a une grande capacité d'adaptation aux conditions changeantes de l'environnement. Dans la station de Béchar, où la contrainte hydrique est très forte (sécheresse durant toute l'année), cette espèce a tendance à réduire sa transpiration par réduction de la surface foliaire et par la présence d'un revêtement pileux assez dense. De telles stratégies furent aussi décrites chez d'autres espèces vivant en milieux arides (Huang *et al.*, 2009; Macek *et al.*, 2009). Les modifications de la structure anatomique comme l'augmentation de l'épaisseur de la cuticule, de l'épiderme et du parenchyme palissadique sont des atouts pour l'adaptation de cette espèce à l'aridité. Ces modifications anatomiques typiques aux xérophytes sont largement évoquées, en l'occurrence

chez *Quercus ilex* (Bussotti *et al.*, 2002) et *Olea europaea* (Guerfel *et al.*, 2009) en réponse au stress hydrique et chez *Pisum sativum* et *Phaseolus vulgaris* faces aux effets néfastes des UV-B (Bolink *et al.*, 2001).

L'épaisseur du parenchyme palissadique est corrélée positivement avec le gradient d'aridité. C'est l'un des paramètres anatomiques les plus discriminants de nos trois populations du pistachier de l'Atlas ce qui corrobore les résultats obtenus chez *Sparticum junceum* ou chez *Olea europaea* en réponse à l'aridité (Bezić *et al.*, 2003; Boughalleb et Hajlaoui, 2011). Les mêmes tendances sont signalées après éclaircie (20-100%) chez les plantules de *Fagus sylvestris* plantés sous un couvert de *Pinus halepensis* (Aranda, 2000).

Cette augmentation de l'épaisseur du parenchyme palissadique avec l'aridité pourrait s'expliquer par une augmentation de la probabilité d'absorption des photons et de leur utilisation dans la photosynthèse par les chloroplastes, qui théoriquement sont nombreux en profondeur des cellules de ce parenchyme assimilateur (Terashima et Saeki, 1983).

2. Les terpènes face aux contraintes du milieu

2.1. Les terpènes face à la sécheresse et leur relation avec la structure anatomique des feuilles du pistachier de l'Atlas

L'analyse phytochimique a révélé la présence de 49 composés terpéniques dans les feuilles du pistachier de l'Atlas. Parmi ces derniers, 22 sont des monoterpènes (8 hydrocarbonés et 14 oxygénés) et 25 des sesquiterpènes (16 hydrocarbonés et 9 oxygénés).

La synthèse de terpènes semble être influencée par l'aridité. En effet, les forts contenus en monoterpènes (136 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS), sesquiterpènes (290 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS) et le total des terpènes (427 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS) sont enregistrés en faveur des individus de la station la plus aride et sont respectivement 2,3; 5 et 3,8 fois plus élevés comparés aux individus de la station la moins d'aride. Les mêmes résultats sont obtenus chez d'autres espèces vivant en conditions de stress hydrique et sous haute température (Peñuelas *et al.*, 2005; Llusà *et al.*, 2009) avec une augmentation de 54 et 119 % en contenus terpéniques, respectivement chez *Pinus halepensis* et *Quercus ilex* cultivés en conditions de stress hydrique comparés aux témoins (Blanch *et al.*, 2009). Toutefois, la concentration en terpènes peut être réduite lorsque le stress hydrique est très sévère (Llusà et Peñuelas, 1998). Ces résultats confortent l'hypothèse de protection assurée par les composés terpéniques contre la photo-destruction des appareils photosynthétiques (Peñuelas *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2008) due aux fortes insulations lumineuses couplées aux fortes températures qui règnent durant la période estivale dans la station la plus aride

Des corrélations ont été mises en évidence entre les quantités terpéniques et la structure interne de la feuille chez le pistachier de l'Atlas. Les forts contenus en terpènes, notamment les monoterpènes qui proviennent directement des produits de photosynthèse s'expliqueraient en partie par l'augmentation de l'épaisseur du parenchyme palissadique dans la station la plus aride. L'augmentation de ces terpènes va aussi de paire avec la forte densité des poils glanduleux tapissant surtout la face abaxiale du limbe et qui sont, à l'instar des poches sécrétrices (Fahn, 1979), les organes de stockage des terpènes chez le pistachier de l'Atlas ou chez d'autres familles telles les Labiacées et Lamiacées (Biswas *et al.*, 2009; Gairola *et al.*, 2009). Dans ce même contexte, l'aridité stimule aussi la formation et le développement des organes de production de résines comme cela a été montré chez *Pinus sylvestris* et *Picea abies* (Turtola *et al.*, 2003).

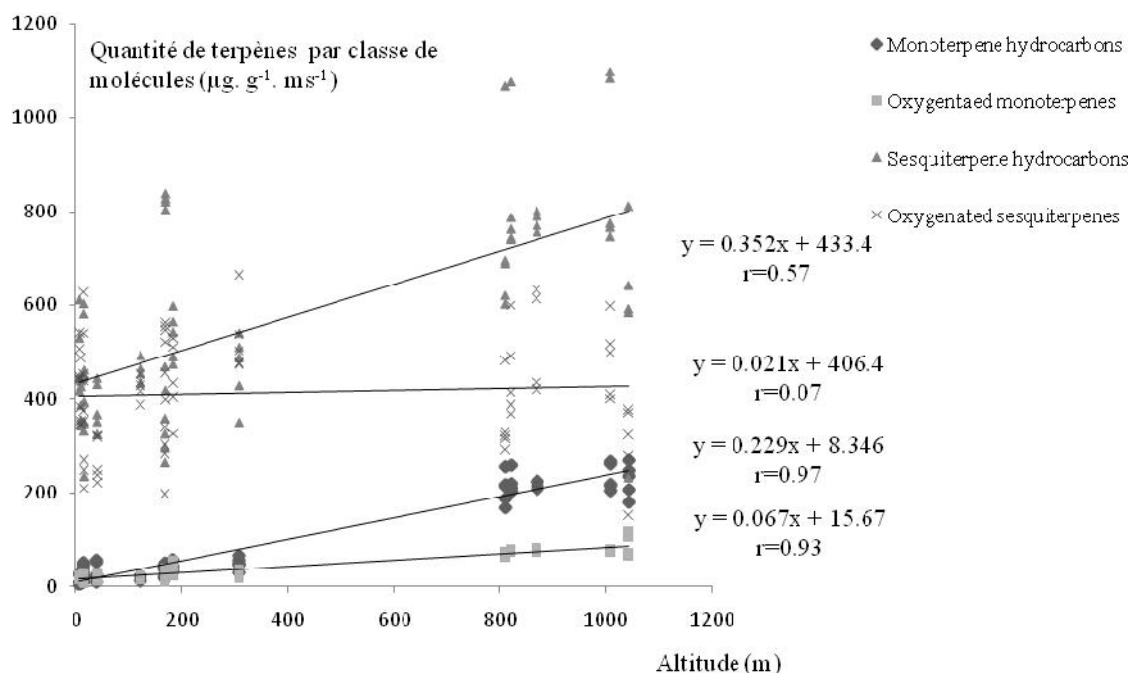
L'étude phytochimique a révélé des différences aussi bien qualitatives que quantitatives entre les différentes populations étudiées. Les composés terpéniques n'augmentent pas tous de la même façon avec l'aridité. Ces réponses peuvent être liées soit aux différents effets de l'aridité sur les terpènes synthases, soit aux différents rôles que jouent les composés terpéniques dans la réponse des plantes à l'aridité (Blanch *et al.*, 2009). Dans notre cas, les résultats statistiques ont montré que α -pinène et spathulenol non seulement sont des composés majoritaires mais d'excellents marqueurs d'aridité ce qui suggère une compétition et une complémentarité entre deux voies de biosynthèse de terpène (DXP /mévalonate) en réponse au stress hydrique.

En conclusion de la variabilité terpénique observée entre les différentes populations, celle-ci est le résultat d'une plasticité phénotypique ou génotypique. A travers la mise en culture de graines issues de ces mêmes populations d'Algérie, nous avons vu que les plantules de Médéa comportaient des poils en touffes ce qui n'avait pas été montré auparavant. Sachant par ailleurs que les trichomes sont par excellence des éléments taxonomiques importants chez le règne végétal (Salmaki *et al.*, 2009; Shaheen *et al.*, 2009), il est très probable que les variabilités terpéniques et morphoanatomiques observées soient le reflet d'une plasticité génotypique.

2.2. Influence de l'altitude sur la composition terpénique chez le lentisque

La seconde plante que nous avons étudiée est *Pistacia lentiscus*, une espèce de moyenne altitude. La synthèse des terpènes semble être aussi influencée par le facteur altitude au même titre que le facteur aridité pour le pistachier de l'Atlas. En effet, des contenus élevés en monoterpènes et sesquiterpènes sont enregistrés chez les populations de haute altitude comparées à celles de faible altitude. Nos résultats corroborent ceux de divers auteurs qui notent que l'altitude est un facteur modifiant la phytochimie des végétaux (Tkachev *et al.*, 2006; Ibanez et Usubillaga, 2006; Haider *et al.*, 2009). En effet, en plus des adaptations morpho-anatomiques typiques des xérophytes observées chez *P. lentiscus* (Ait Said *et al.*, 2009) ou chez *Gossypium hirsutum* L. (Kakani *et al.*, 2003), l'altitude semble augmenter la quantité des huiles chez *Origanum vulgare* (Vokou *et al.*, 1993) et chez *Ocimum basilicum* (Johnson *et al.*, 1999) en stimulant le développement des poils glanduleux (Ioannidis *et al.*, 2002). Aussi, il a été observé que les fortes radiations UV-B conjuguées avec les faibles températures dans les sites les plus élevés font augmenter les contenus en flavonoïdes (Blumthaler *et al.*, 1997) notamment chez *Pisum sativum* et *Phaseolus vulgaris* (Bolink *et al.*, 2001), *Vaccinium myrtillus* (Jaakola *et al.*, 2004), *Vicia faba* (Bilger *et al.*, 2007) ou chez *Arnica montana* (Albert *et al.*, 2009).

Des corrélations linéaires positives sont observées entre les différentes classes de terpènes avec l'altitude. Les monoterpènes sont les composés les plus fortement corrélés à ce facteur comparés à d'autres classes ($r=0.97$, $P<0.001$ pour les monoterpènes hydrocarbonés et $r=0.93$, $P<0.001$ pour les monoterpènes oxygénés). Ceci conforte l'hypothèse de la protection des monoterpènes contre les UV (Bosabalidis et Skoula, 1998; Zavala et Ravetta, 2002). Parmi cette classe de molécules, α -pinène et camphène sont les plus corrélés avec l'altitude ($r> -0.90$) et ils sont connus comme étant de bons marqueurs des effets d'altitude chez *Pinus sylvestris* (Naydenov et Alexandrov, 1999).



Corrélations entre les différentes classes de terpènes et l'altitude

L'analyse en composantes principales de nos profils chimiques a mis en évidence l'existence de trois groupes chémotaxonomiques originaux chez les populations algériennes de lentisque. Les groupes I et II dominés par le β -caryophyllène correspondent aux huiles obtenus dans les échantillons de Sardaigne (Barra *et al.*, 2007) et ceux des quelques échantillons algériens (Mecherara-Idjeri *et al.*, 2008). α -pinène recensé en forte quantité dans les échantillons de Kabylie est aussi la principale molécule chez les populations d'Oulmes (Maroc) (Zrira *et al.*, 2003), Sardaigne (Barra *et al.*, 2007), Espagne (Fernandez *et al.*, 2000), Tunisie (Ben Douissa *et al.*, 2005) et chez certains échantillons algériens (Dob *et al.*, 2006; Mecherara-Idjeri *et al.*, 2008). La composition chimique du groupe II caractérisée par une abondance du caryophyllène oxide est similaire aux provenances de Mehdiya du Maroc (Zrira *et al.*, 2003). δ -cadinène est un composé majoritaire aussi bien dans le groupe III que dans les échantillons en provenance de Sardaigne avec un pourcentage de 6.5% (Congiu *et al.*, 2002).

Nous avons enregistré des quantités faibles de terpènes chez les populations du lentisque du littoral, exposées aux embruns marins. Ceci est en accord avec les travaux de Baghalian *et al.* (2008) qui ne montrent aucun effet de la salinité sur la qualité des huiles chez *Matricaria recutita* L. Cependant, des tendances inverses montrent que la salinité stimule la synthèse des terpénoïdes polyinsaturés chez *Rhizosolenia setigera* (Rowland *et al.*, 2001), l'expression des gènes codant certains terpènes tels lupeol, β -amyryn et α -amyryn (Basyuni *et al.*, 2009) et la synthèse des tri-terpénoïdes chez *Kandelia candel* (Oku *et al.*, 2003; Basyuni *et al.*, 2009).

Les terpènes ne semblent pas participer à la protection des feuilles de lentisque contre le dépôt de sels dû aux embruns marins comparés aux flavonoïdes dont les quantités sont importantes chez les plantules de *P. lentiscus* et *Myrtus communis* (Tattini *et al.*, 2006), *Saccharum officinarum* (Wahid et Ghazanfar, 2006) ou chez *Cordyline fruticosa* (Plaza *et al.*, 2009) en réponse au stress salin.

Le lentisque montre une très grande aptitude à exprimer des différences phénotypiques en réponse aux variations des conditions écologiques dans les régions méditerranéennes par une

fluctuation importante de ses gènes (Nahum *et al.*, 2008). La variabilité des contenus en terpènes dans nos échantillons est aussi rapportée dans la littérature, notamment chez les provenances du Maroc (Zrira *et al.*, 2003), Sardaigne (Barra *et al.*, 2007), Corse (Castola *et al.*, 2000), certains échantillons d'autres provenances algériennes (Mecherara-Idjerie *et al.*, 2008) ou chez *P. chinensis* de Chine (Zhu *et al.*, 2006). Cette variabilité permet sans doute au lentisque une meilleure adaptation aux conditions environnementales contrastées et par conséquent offre à cette espèce une aire de distribution très étendue dans la région Méditerranéenne (Barazani *et al.*, 2003).

2.3. Influence de la saison estivale sur les teneurs en classes terpéniques

La quantité de monoterpènes contenue dans les feuilles de chacune des espèces récoltées en période estivale (mois de juin pour le pistachier de l'Atlas et septembre pour le lentisque) est nettement plus faible comparée aux sesquiterpènes. Cette différence aussi recensée chez d'autres provenances de lentisque en Algérie (Mecherara-Idjeri *et al.*, 2008) pourrait s'expliquer par leurs caractères physiques notamment par la différence dans leur point d'ébullition (Zrira *et al.*, 2003). Les monoterpènes sont les composés les plus volatils comparés aux sesquiterpènes (Yay et Waterman, 1993; Ormeño *et al.*, 2007). Leur émission est maintenue en conditions de sécheresse même lorsque les stomates sont fermés (Pegoraro *et al.*, 2004) par leur perméabilité à travers la cuticule (Schmid *et al.*, 1992) ce qui explique la réduction de leurs teneurs dans les organes de stockage. En outre, la perméabilité de certains composés à travers la membrane cellulaire serait en partie à l'origine de la disproportion observée entre ces deux classes de terpènes (Gershenzon *et al.*, 2000; Ormeño, *et al.*, 2007).

2.4. Les terpènes, éléments taxonomiques

Il a été signalé qu'au sein d'un même genre, des espèces peuvent se différencier au niveau chémotaxonomique et présenter des stocks voire des émissions différentes tant par la quantité que par la nature des composés (Staudt *et al.*, 2004; Loreto *et al.*, 2009). En effet, l'étude comparative de la composition phytochimique entre les deux espèces étudiées révèle que les terpènes peuvent être d'excellents marqueurs taxonomiques même à l'échelle infraspécifique. En effet, certains composés tels α -thujène, limonène, γ -terpinène, α -terpineol, α -calacorene sont présents uniquement chez le lentisque alors que d'autres tels tricyclène, thuja-2,4(10)-diène, *cis*- et *trans*, sabinène hydrate (IPP vs OH), α -campholénique aldéhyde, nopinone, *trans*-pinocarveol, *trans*- verbenol, myrtenal, myrtenol et verbenone caractérisent uniquement le pistachier de l'Atlas. Aussi, les monoterpènes et sesquiterpènes sont utilisés par Canard *et al.* (1997) dans la systématique des espèces du genre *Abies*.

2.5. Théorie de la croissance et la différenciation

Les quantités terpéniques sont significativement trop élevées aussi bien dans les stations les plus arides que celles de hautes altitudes. Ceci corrobore la **théorie de l'équilibre entre croissance et différenciation** (« Growth Differentiation Balance Hypothesis » : G.D.B.H.) formulée par Lorio (1988) et Herms et Mattson (1992). Cette théorie est vérifiée par certains auteurs qui notent que contrairement à la baisse de leur croissance (hauteur et diamètre des arbres), il a été observé une augmentation des contenus en monoterpènes chez *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, *Pinus halepensis* et *Quercus ilex* (Turtola *et al.*, 2003; Blanch *et al.*, 2009) ou en composés phénoliques chez *Populus alba* en réponse à l'augmentation de la lumière et à la faible disponibilité en éléments nutritifs (Hemming et Lindroth, 1999).

2.6. Les terpènes dans la gestion des feux de forêts

L'analyse des terpènes dans les feuilles, pourrait s'appliquer dans l'amélioration de la gestion des risques naturels d'incendie en milieu méditerranéen. En effet, les travaux développés par Owens *et al.* (1998) sur des peuplements de *Juniperus ashei* Buchh. en Amérique du Nord, prouvent que, lorsque le stockage des terpènes, augmente, l'inflammabilité du matériel végétal augmente également. Il a été estimé que 10 % du risque d'inflammation était dû à la teneur en terpènes des huiles essentielles des feuilles (Nuñez-Regueira *et al.*, 2002).

En région méditerranéenne, l'étude de l'implication éventuelle des composés terpéniques dans le risque de feu de forêt se justifie particulièrement car cette région offre un contexte climatique très favorable aux départs de feux de forêts (Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2000; Clément, 2005) et par l'existence de nombreuses espèces qui stockent des quantités importantes de terpènes (e.g. espèces du genre *Pistacia*) et par une forte récurrence des feux.

3. Réponse écophysiological aux variations des facteurs du milieu dans le temps et dans l'espace chez les espèces dioïques

3.1. Contexte écologique

Les plantes sont le plus souvent exposées aux facteurs de stress environnementaux qui ont des impacts profonds sur leur croissance et leur productivité (Zhou *et al.*, 2010). La sécheresse et une forte salinité sont de loin les facteurs responsables de la perte de plus de 50% de la productivité (Parida et Das, 2005; Valderramaa *et al.*, 2007). La déforestation est un sérieux problème environnemental dans les zones arides, due à l'expansion de l'agriculture, collecte de bois de chauffage, et le surpâturage (Liu, 2009). La maîtrise des réponses écophysiological des espèces *P. lentiscus* et *P. atlantica* dans leur habitat naturel serait sans doute d'un grand intérêt pour la réussite du programme de reboisement en Algérie (Cortina *et al.*, 2008).

3.2. Stress hydrique des sites étudiés

Le comportement écophysiological du lentisque a été étudié dans trois sites en France mais qui sont très contrastés. Les valeurs les plus faibles du potentiel hydrique sont obtenues en saison estivale essentiellement dans les sites aride (Callelonque: -2.25 MPa) et salin (Montredon: -2.75 MPa) comparée au site semi aride (Montespin) dont la valeur moyenne est de -1.5 MPa. Le lentisque est une espèce possédant des racines pivotantes; ces valeurs restent faibles comparées aux espèces avec racines superficielles qui sont plus vulnérables et dont les potentiels hydriques peuvent atteindre des valeurs encore plus négatives (Ogaya et Peñuelas, 2003).

3.3. Variation des paramètres de fluorescence chez le lentisque en fonction de la saison et les facteurs de stress

L'activité photosynthétique des plantes est fonction de la disponibilité en eau, des températures et de l'insolation. Elle varie dans le temps et dans l'espace en fonction des conditions du milieu. Pendant un an, nous avons fait des mesures *in situ* de rendement quantique de la photosynthèse chez le lentisque.

Nos résultats révèlent que le lentisque est très sensible aux faibles températures hivernales comparées aux autres saisons ce qui corrobore les travaux de Ogaya et Peñuelas (2003). En effet, durant cette saison, nous avons observé et pour chaque site étudié, des taux faibles de

l'efficacité quantique maximale ($F_v/F_m < 0.77$) essentiellement dans le site exposé aux embruns marins (0.71) ce qui témoigne d'une photoinhibition chronique de l'appareil photosynthétique de lentisque. Cette photoinhibition hivernale a été observée aussi chez d'autres espèces notamment *Myrtus communis* (Ain-Lhout *et al.*, 2004), *Calicotome villosa* (Yiotis *et al.*, 2008), *Cryptomeria japonica* (Kobayashi *et al.*, 2010), *Dicksonia antarctica* et *Cyathea australis* (Volkova *et al.*, 2011). Certains auteurs notent que les végétaux les plus sensibles aux faibles températures hivernales sont ceux qui dérivent du climat tropical comme le lentisque (Gulías *et al.*, 2008), *C. salvifolus*, *P. latifolia* et *A. unedo* (Corcuera *et al.*, 2005) et aussi les sclérophytes comparées aux espèces à feuilles caduques (Kyparissis *et al.*, 2000; Oliveira et Peñuelas 2000). Cette hypothèse ne doit pas être généralisée étant donné que les espèces ayant une origine tempérée telles que les résineux sont aussi touchés par ce phénomène (Porcar-Castell *et al.*, 2008).

Nous avons montré que cette photoinhibition hivernale pourrait s'expliquer par la baisse de l'efficacité dans la conversion de l'énergie lumineuse de l'antenne collectrice au centre réactionnel de PSII due probablement aux effets des embruns marins. Les faibles températures peuvent avoir des effets inhibiteurs sur l'activité des enzymes impliquées dans l'assimilation carbonée ce qui pourrait être à l'origine de la réduction de l'efficacité quantique maximale observée. Ces inhibitions sont cependant amplifiées en conditions de luminosité importante (Robakowski et Wyka, 2009). Il a été démontré que dans le cas extrême, ces faibles températures affectent l'ultrastructure du chloroplaste par la lyse de sa membrane (Mai *et al.*, 2009) ou par la destruction de sa structure lamellaire (Renaut *et al.*, 2005). Les femelles sont particulièrement sensibles avec une apparition de vésicules et de plastoglobules dans le stroma (Zhang *et al.*, 2011). Dans notre cas, cette photoinhibition touche de la même façon aussi bien les pieds mâles que les arbres femelles ce qui explique que la réponse aux faibles températures entre les deux sexes chez les plantes dioïques est spécifique à l'espèce.

Différentes études ont montré que la synthèse carbonée chez les espèces méditerranéennes est inhibée surtout en saison estivale (Gratani et Varone, 2004; Baquedano et Castillo, 2007). Dans notre cas, nous n'avons pas observé une photoinhibition chronique de l'appareil photosynthétique malgré les très faibles quantités de précipitations ($< 1\text{mm}$) conjuguées aux fortes températures minimales (20°C) qui règnent durant cette saison. En revanche, ce sont les individus du site semi-aride qui résistent mieux à la sécheresse. En effet, les individus des sites aride et littoral dissipent sous la forme de chaleur une part plus importante de l'énergie lumineuse absorbée probablement à cause de la faible disponibilité en eau dans leur tissu. Ceci s'explique par les valeurs élevées des coefficients de quenching non photochimique (NPQ) obtenues dans ces stations. Les valeurs maximales sont de l'ordre de 2,6 et 2,9 respectivement dans les sites aride et salin. Ces données sont proches de celles observées chez les plantules de *Haloxylon ammodendron* vivant en condition de lumière saturante (Han *et al.*, 2010). Quoique dans certains cas, comme chez les plantules de lentisque, la plasticité de ce coefficient est plus étendue car pouvant atteindre 5.1 en condition de stress hydrique sévère (Gulías *et al.*, 2002). Cette augmentation du coefficient de quenching non photochimique en été est combinée avec l'augmentation du ratio Car/Chl qui est d'ailleurs corrélé négativement avec le stress hydrique. La dissipation thermique de l'énergie excédentaire relève donc des caroténoïdes et en particulier de la zéaxanthine; une forme désépoxycide qui provient du cycle des xanthophylles (Pandey *et al.*, 2006; Baquedano et Castillo, 2007) est un moyen de protection des complexes collecteurs de lumière des photosystèmes contre la photooxydation. Des résultats similaires sont obtenus chez de nombreuses espèces en réponse au déficit hydrique et en particulier chez *Saccharum officinarum* (Wahid, 2007) ou chez *Solanum lycopersicum* (de Pascal *et al.*, 2001). Les caroténoïdes sont des molécules hydrophobes

issues du métabolisme secondaire. Dans le chloroplaste, ces composés sont essentiellement localisés dans les membranes des thylakoïdes en association avec le complexe protéo-chlorophyllien (Yokthongwattana *et al.*, 2010). En plus de leurs rôles comme pigments accessoires, ces molécules sont des antioxydants (Gallè *et al.*, 2007), elles interagissent avec la chlorophylle à l'état triplet excité évitant ainsi la formation de l'oxygène singulet (de Pascal *et al.*, 2001) ce qui justifie l'augmentation de ce ratio. Cette augmentation du ratio Car/Chl est plutôt due à la réduction des taux de chlorophylle en été surtout dans les sites arides et salin dont les valeurs sont les plus faibles. Des résultats identiques sont observés chez *Broussonetia papyrifera* (Voronin, *et al.*, 2003), *Potentilla arenaria* (Veres *et al.*, 2006), *Quercus coccifera* et *Pinus halepensis* (Baquedano *et al.*, 2008) et chez *P. lentiscus* et *R. officinalis* (Ain-Lhout *et al.*, 2004) en réponse à l'aridité. Cette réduction de la teneur en chlorophylle serait une forme supplémentaire de protection chez les espèces stressées (Kyparisis *et al.*, 2000; Balaguer *et al.*, 2002). En effet, la perte de chlorophylle sous condition de lumière excédentaire en été réduit la capacité d'absorption de photons par les feuilles et donc les risques de photoinhibition (Anderson *et al.*, 1992; Munné- Bosch et Alegre, 2000).

3.4. Effet sexe

L'effet sexe apparaît significativement surtout en saison printanière avec des taux les plus élevés de l'efficacité quantique maximale (Fv/Fm) en faveur des arbres femelles. Durant cette saison, les arbres femelles doivent allouer plus de ressources pour leur reproduction notamment dans le développement et la maturation des fruits. Ces résultats corroborent ceux réalisés sur *P. lentiscus* (Jonasson *et al.*, 1997), *P. terbeinthus* (Zahoueh *et al.*, 1991), *Corema album* (Zunzunegui *et al.*, 2006), et *Siparuna grandiflora* (Nicorta *et al.*, 2003). Cependant, dans certains cas, la reproduction réduit l'intensité de la photosynthèse chez les femelles (Sánchez-Vilas et Retuerto, 2011). Ces efforts de reproductions sont quantifiés et peuvent être 3 fois plus élevés chez les arbres femelles comparés aux mâles comme indiqué chez *P. terebinthus* (Zahoueh *et al.*, 1991) et *Corema album* (Zunzunegui *et al.*, 2006). Cependant, ces derniers investissent plus dans la floraison comparés aux femelles chez le lentisque (Milla *et al.*, 2006a). Divers auteurs notent que chez les espèces dioïques, les mâles ont une meilleure capacité de fixation de CO₂ (Correia et Diaz Barrada, 2000). Pour compenser leur faible capacité photosynthétique, les femelles développent des stratégies adaptatives en gardant plus longtemps les feuilles âgées comme c'est le cas chez le lentisque (Jonasson *et al.*, 1997) ou en augmentant leur surface foliaire comme c'est le cas chez *Siparuna grandiflora* (Nicorta *et al.*, 2003).

Etant donné que l'effort de reproduction est plus élevé chez les femelles, ces dernières souffrent plus dans les habitats de stress (Xu *et al.*, 2008b; Zhang *et al.*, 2010b) ce qui donne un sexe ratio en faveur des mâles (Stehlik *et al.*, 2008; Letts *et al.*, 2008). Nous attendons une régression des arbres femelles dans l'avenir avec le réchauffement climatique ce qui peut compromettre la multiplication des espèces dioïques y compris celle de genre *Pistacia*.

Dans le climat Méditerranéen, le plus souvent, l'activité photosynthétique est maximale au printemps et en automne, saisons caractérisées par des températures optimales de croissance, couplées avec de fortes précipitations (Joffre *et al.*, 1999 in Gulías *et al.*, 2008).

En effet, nous avons enregistré une reprise après les pluies automnales et que cette résilience est meilleure dans les sites arides comparés aux sites salins. A travers ces résultats, nous pouvons prévoir la régression des populations de lentisque situées sur le littoral avec le réchauffement climatique.

4. Variation des échanges gazeux chez les plantules étudiées en fonction des contraintes du milieu

La réponse écophysiological des plantules de *P. atlantica* et de *P. lentiscus* respectivement à l'aridité et à la salinité, nous a aussi intéressés.

Les résultats des échanges gazeux révèlent que les valeurs maximales de photosynthèse chez les plantules du pistachier de l'Atlas sont de l'ordre de 6 et 9 $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ respectivement pour les provenances Béchar et Médéa comparées aux plantules de lentisque à âge équivalent et originaires de Montredon (Marseille) dont les valeurs avoisinent 4 $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Le pistachier de l'Atlas est une espèce caducifoliée, elle est donc appelée à assurer une activité photosynthétique élevée pour compenser la période d'absence de feuilles comparée au lentisque qui est sempervirent et dont la photosynthèse bien que faible, est étalée dans l'année ce qui explique ces différences de photosynthèse en faveur du pistachier de l'Atlas. Les mêmes résultats sont obtenus chez 13 espèces méditerranéennes *in situ* par Gulias *et al.* (2008). Ces valeurs restent faibles comparées à celles citées dans la littérature notamment chez *Prunus dulcis*, *P. scoparia* et *P. lycioides* dont les taux sont respectivement de l'ordre de 16, 22 et 23 $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Rouhi *et al.*, 2007) ou chez *Pistacia khinjuk* et *P. mutica* âgées de 21 mois ($> 9 \mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) (Ranjbarfordoei *et al.*, 2002). Chez des arbustes de lentisque d'Espagne, les taux d'assimilation avoisinent 10.9 et 6.6 $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivement pour les mâles et les femelles (Correia et Diaz Barradas, 2000). Nous en concluons, que la photosynthèse dépend de l'âge et de l'espèce.

En réduisant la disponibilité d'eau dans le sol, la sécheresse et la salinité ont les mêmes effets sur la physiologie de la plante (Chaves *et al.*, 2009; Sucre et Suárez, 2011). En effet, les stress hydrique et salin (NaCl) réduisent significativement et de la même façon les différents paramètres de fluorescence et des échanges gazeux mesurés respectivement chez les plantules du pistachier de l'Atlas et de lentisque.

Les plantes répondent à la sécheresse par deux voies principales: soit par évitement soit par une tolérance à la déshydratation (Bagniewska-Zadworna *et al.*, 2007; Elsheery et Cao, 2008; Díaz-Barradas *et al.*, 2010). L'une des façons d'éviter la sécheresse est la capacité de la plante à maintenir un état hydrique satisfaisant en développant un système racinaire pivotant par exemple. La stratégie de tolérance à la sécheresse adoptée par ces plantules est principalement liée, à la réduction de la transpiration dont la diminution de la conductance stomatique par fermeture des stomates joue un rôle déterminant. Les plantules des deux espèces étudiées possèdent un control stomatique très efficace en fermant leur ostiole aussitôt que les premiers signes de stress s'opèrent; elles peuvent donc être classées parmi les espèces tolérantes à la sécheresse. Cette fermeture stomatique serait liée à la réduction de la turgescence des cellules de garde des stomates, phénomène déclenché par l'acide abscisique (Comstock, 2002; Holbrook *et al.*, 2002). Aussi, ce composé intervient dans les ajustements osmotiques ainsi que dans la protection des membranes cellulaires contre la perte des électrolytes (Bagniewska-Zadworna *et al.*, 2007).

La concentration de CO_2 dans les chloroplastes est faible par rapport à celles de l'environnement. Ceci est due à une série de résistances en phase gazeuse et liquide qui s'opposent à la diffusion libre de ce gaz depuis l'atmosphère jusqu'aux sites de carboxylation (Aalto et Juurola, 2002). Pendant longtemps, on a considéré que le stress hydrique et salin limitent la photosynthèse soit par la résistance à la diffusion de CO_2 soit par des altérations de processus métaboliques (Flexas *et al.*, 2004). Dans notre cas, la fermeture stomatique est la

première voie de résistance à la diffusion de CO₂. Il s'ensuit une réduction de la photosynthèse chez le pistachier de l'Atlas qui décroît de 95% (Médéa) et 71% (Béchar) après 17 jours de stress hydrique et une réduction de 36% chez le lentisque après 12 jours d'arrosage avec NaCl. Cette limitation stomatique est largement citée dans la littérature et constitue la principale voie de la limitation de la photosynthèse chez nombreuses espèces en réponse aux stress hydrique ou physiologique (Díaz-Barradas *et al.*, 2010). Des travaux antérieurs montrent que ces deux variables sont corrélées par des fonctions hyperboliques (Kaiser et Kappen, 2000) ou d'une façon linéaire (Thomas et Eamus, 1999).

Les stress hydrique et salin réduisent significativement les différents paramètres de fluorescence mesurés à savoir qP, ΦPSII, ETR et Fv/Fm comme le montre d'ailleurs leurs cinétiques décroissantes avec la durée de stress appliquée. Cela signifie que ces 2 types de stress affectent à la fois les réactions dites « claires » et « sombres » de la photosynthèse au-delà de leur interdépendance fonctionnelle.

Les effets néfastes de NaCl sur les performances photosynthétiques du lentisque sont nettement améliorés par le traitement avec le CaCl₂ ce qui suggère que le comportement de cette espèce sera meilleur dans un sol calcaire.

La réduction de la synthèse carbonée peut être aussi due à une limitation biochimique du chloroplaste à fixer le dioxyde de carbone (Flexas et Medrano, 2002; Wang *et al.*, 2007), probablement associée à la régénération limitante du Ribulose 1-5 Bisphosphate, substrat de la Rubisco. Dans certains cas, les gènes codant cette enzyme et son activase sont réprimés au niveau transcriptionnel par une forte concentration en NaCl (Yao *et al.*, 2010). Aussi, le blocage du transfert du CO₂ des espaces intercellulaires vers les sites de carboxylation suite à l'inhibition de l'activité de l'anhydrase carbonique pourrait en être la cause (Bernacchi *et al.*, 2002).

Les plantules du pistachier de l'Atlas originaires de la station de Béchar sont plus résistantes au stress hydrique comparées aux provenances de Médéa lorsqu'elles sont cultivées dans les mêmes conditions. Ceci suggère que les mécanismes ainsi développés ont une origine génétique donc transmissible de génération en génération. L'analyse des clichés de microscopie électronique a confirmé l'existence de différences morphologiques entre ces deux populations notamment par la présence de stomates denses, de petite taille et à moitié ouverts chez les provenances de Béchar. Juste après l'arrosage des plantules du pistachier de l'Atlas, on constate là également que ce sont les populations de Béchar qui ont une plus grande capacité de résilience.

Le lentisque possède des feuilles glabres sans organes d'excrétion de sels tels les poils ou glands à sels qui sont très efficaces dans le maintien de la stabilité de la pression osmotique (Zhang *et al.*, 2003). Toutefois, cette espèce reste résistante à la salinité voire aux métaux lourds (Vilagrosa *et al.*, 2003). En effet, des plantules âgées de 10 mois restent vivantes et aucun signe visible de stress n'est observé après 12 jours de traitement avec NaCl à 300mM.

Il a été observé, qu'une fois absorbé par les racines, le Na⁺ se trouve essentiellement concentré dans les feuilles (Tattini *et al.*, 2006) et aussi dans la vacuole (Munns, 2002). Les mêmes stratégies concernent les ions phosphores (Milla *et al.*, 2006b) ainsi que le Nickel et le Zinc (Nahum *et al.*, 2005). La concentration de Na⁺ dans le cytoplasme de la feuille est méconnue, mais elle ne dépasse guère 100 m M (Wyn Jones et Gorham, 2002). Dans notre cas les plantules sont arrosées avec une solution à 300 mM de NaCl. La séquestration du Na⁺

dans la vacuole empêche la toxicité du cytoplasme qui serait néfaste pour le métabolisme cellulaire (Zhang et Blumwald, 2001; Kanai *et al.*, 2007). Cependant, le stockage de Na⁺ dans les cellules épidermiques mais aussi dans les parois cellulaires, stratégies très rarement décrites chez les autres espèces sont autant de mécanismes qui renforcent l'adaptation de cette espèce à la salinité.

Il ressort des résultats obtenus dans cette étude, que les deux espèces étudiées : *Pistacia lentiscus* L. et *Pistacia atlantica* Desf. sont potentiellement adaptées aux conditions d'aridité et de salinité. Nos résultats ont démontré l'existence de génotype d'élite, principalement en milieu aride dont l'utilisation dans les reboisements en Algérie permettra non seulement de résoudre les problèmes de déforestation mais aussi ceux de l'aridification des milieux dans notre pays du fait des changements globaux.

5. Perspectives

Les travaux que nous avons mené ont aboutit aux résultats que nous venons de discuter. Ainsi, nous insisterons sur certains points qui nous paraissent importants à poursuivre:

- Nous avons constaté une variabilité de la composition terpénique chez les deux espèces étudiées en fonction des conditions du milieu. Il serait intéressant de procéder aux extractions terpéniques sur des plantules originaires de différentes conditions écologiques et cultivées dans les mêmes conditions de cultures pour mettre en évidence la part de l'effet génétique sur cette différence observée *in situ*.
- Les composés terpéniques peuvent être modulés par la nature chimique du sol. Il serait donc intéressant de procéder à un échantillonnage très vaste en tenant en compte des différents types de sols, notamment leur composition en N, P, K.
- Le stress hydrique et l'exposition aux UV en altitude favorisent l'accumulation des contenus terpéniques. Il serait donc intéressant d'étudier les effets de ces deux facteurs sur l'expression des gènes candidats impliqués dans les voies de biosynthèse des marqueurs d'aridité et d'altitude.
- De nombreux travaux montrent que des enzymes telles que les superoxide dismutases (SOD), les ascorbate-peroxydases (APX), les glutathion-S-transférases (GST), les glutathion-peroxydases (GPX) et les catalases (CAT) s'accumulent pendant le stress hydrique (Flexas *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2011) et salin (Jithesh *et al.*, 2006). A cela s'ajoute le système non enzymatique qui est essentiellement représenté par les caroténoïdes et l' α -tocophérol (Munné-Bosch, 2005). L'étude de ce système antioxydant dans la protection de l'intégrité du système photosynthétique lors des contraintes hydrique ou saline est intéressante à explorer.
- Les adaptations physiologiques aux facteurs d'aridité et de salinité s'opèrent à d'autres niveaux d'organisation cellulaires. Nous préconisons de compléter nos recherches par l'étude des protéines de stress hydrique LEA, de chocs thermiques HSP ainsi que certaines protéines telles la DSP21, DSP22 et DSP34 impliquées dans l'entretien des structures du chloroplaste en réponse à une contrainte hydrique.

Références Bibliographiques

- Aalto, T., and Juurola, E., 2002.** A three-dimensional model of CO₂ transport in airspaces and mesophyll cells of a silver birch leaf. *Plant Cell Environ.* 5, 1399-1409.
- Adams, R.P., 1991.** Cedar wood oil – analysis and properties. In: Linskens, H.F., Jackson, J.F. (Eds.), *Modern Methods of Plant Analysis, New Series: Essential Oils and Waxes*. Springer-Verlag, Berlin.
- Adams, R.P., 1999.** Systematics of multi-seeded eastern hemisphere *Juniperus* based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting. *Biochem. Syst. Ecol.* 27, 709-725.
- Adams, R.P., 2007.** Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass spectrometry, 4th ed.; Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA.
- Affek, H.P., and Yakir, D., 2003.** Protection by Isoprene against Singlet Oxygen in Leaves. *Plant Physiology* 129, 269-277.
- Agnihotri, V.K., Lattoo, S.K., Thappa, R.K., Kaul, P., Qazi, G.N., Dhar, A.K., Saraf, A., Kapahi, B.K., Saxena, R.K., and Agarwal, S.G., 2005.** Chemical variability in the essential oil components of *Achillea millefolium* Agg. from different Himalayan habitats (India). *Planta Med.* 71, 280-283.
- Ain-Lhout, F., Zunzunegui, M., Diaz Barradas, M.C., Tirado, R., Clavijo, A., and Garcia Novo, F., 2004.** Comparison of proline accumulation in two Mediterranean shrubs subjected to natural and experimental water deficit. *Plant and Soil* 230, 175-183.
- Ait Said, S., Kadi-Bennane, S., et Smail-Saadoun, N., 2003.** Etude comparative de l'adaptation de trois populations de *Pistacia atlantica* Desf. (Ain Oussera, Messaad et Tamanrasset) par le biais des dimensions stomatiques. Actes des journées scientifiques de l'INRGREF, Hammamet du 02 au 03/12/2003 Tunisie (7) 19-26
- Ait Said, S., 2003.** Etude biosystématique et évolution adaptative de *Pistacia atlantica* Desf. : Cas de deux populations dans la région de Djelfa. Mémoire de Magister, I.N.A., Alger, 113 p.
- Ait Said, S., Derridj, A., Verlaque, R., Fernandez, C., Gauquelin, T., and Mevy, J.P., 2009.** Effects of aridity on foliar characteristics of two dioecious species from Algeria: *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf. V International Symposium on Pistachios & Almonds Sanliurfa, Turkey, October 06-10 2009.
- Akhkha, A., Boutraa, T., and Alhejely, A., 2011.** The Rates of Photosynthesis, Chlorophyll Content, Dark Respiration, Proline and Abscicic Acid (ABA) in Wheat (*Triticum durum*) under Water Deficit Conditions. *international Journal of Agriculture and Biology* 13, 215-221.
- Akram, M., Ashraf, M.Y., Jamil, M.R. Iqbal, M., Nafees, M., and Khan, M.A., 2011.** Nitrogen application improves gas exchange characteristics and chlorophyll fluorescence in Maize hybrids under salinity conditions. *Russian Journal of Plant Physiology* 58, 394-401.

- Albert, A., Sareedenchai, V., Heller, W., Seidlitz, H.K., and Zidorn, C., 2009.** Temperature is the key to altitudinal variation of phenolics in *Arnica montana* L. cv. ARBO. *Oecologia* 160, 1–8.
- Al-Saghir, M.G., Porter, D.M., and Nilsen, E.T., 2006.** Leaf anatomy of *Pistacia* species (Anacardiaceae). *Journal of Biological Sciences* 6, 242-244.
- Alyafi, J., 1979.** Approche systématique et écologie du genre *Pistacia* L. dans la région Méditerranéenne. Thèse de Docteur de 3^{ème} Cycle. Faculté des Sciences et Techniques. St Jérôme, Marseille P.
- Anderson, J.V., Chevone, B.I., and Hess, J.L., 1992.** Seasonal variation in the antioxidant system of eastern white pine needles. *Plant Physiol.* 98, 501-508.
- Aranda, I., Felipe, B.L., Gil, L., and Alberto, P.J., 2000.** Effects of relative irradiance on the leaf structure of *Fagus sylvastri* L; seedlings planted in the under story of a *Pinus sylvestris* L. stand after thinning. *Annal. For. Sci.* 58, 673-680.
- Arimura, G.I., Garms, S., MaVei, M., Bossi, S., Schulze, B., Leitner, M., Mithöfer, A., and Boland, W., 2008.** Herbivore-induced terpenoid emission in *Medicago truncatula*: concerted action of jasmonate, ethylene and calcium signaling. *Planta* 227, 453-464.
- Armas, C., and Pugnaire, F.I. 2009.** Ontogenetic shifts in interactions of two dominant shrub species in a semi-arid coastal sand dune system. *J. Veg. Sci.* 20, 535-546.
- Armas, C., Padilla, FM., Pugnaire, F.I., and Jackson, R.B., 2010.** Hydraulic lift and tolerance to salinity of semiarid species: consequences for species interactions. *Oecologia* 162, 11-21.
- Ashafa, A.O.T., Grierson, D.S., and Afolayan, A.J., 2008.** Effect of drying methods on the chemical composition of essential oil from *Felicia muricata* leaves. *Asian Journal of Plant Sciences* 7, 603-606.
- Ashraf, M., 2004.** Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora* 199, 361-376.
- Ashraf, M., and Foolad, M.R., 2007.** Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59, 206-216.
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., and Debbache, N., 2009.** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem.* 112, 303-309.
- Attia, F., 2007.** Effet du stress hydrique sur le comportement ecophysiologique et la maturité phénolique de la vigne *Vitis vinifera* L.: Etude de cinq cépages autochtones de midi-pyrénées. Thèse de Docteur, Institut National Polytechnique Toulouse, 194 p.

- Babita, M., Maheswari, M., Rao, L.M., Shanker, A.K., and Rao, D.G., 2010.** Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. *Environmental and Experimental Botany* 69, 243-249.
- Bacelar, E.A., Santos, D.L., Moutinho-Pereira, J.M., Goncalves, B.C., Ferreira, H.F., and Correia, C.M., 2006.** Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Sci.* 170, 596-605.
- Baczek-Kwinta, R., Koziel, A., and Seidler-Lozykowska, K., 2011.** Are the fluorescence parameters of German chamomile leaves the first indicators of the anthodia yield in drought conditions? *Photosynthetica* 49, 87-97.
- Baghalian, K., Haghiry, A., Naghavi, M.R., and Mohammadi, A., 2008.** Effect of saline irrigation water on agronomical and phytochemical characters of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Scientia Horticulturae* 116, 437-441.
- Bagniewska-Zadworna, A., Zenkteler, E., Czaczyk, K., and Osinśka, M., 2007.** The effect of dehydration with or without abscisic acid pretreatment on buds regeneration from *Polypodium vulgare* L. rhizomes. *Acta Physiol Plant* 29, 47-56.
- Bagnouls, F., et Gaussen, H., 1953.** Saison sèche et indice xérothermique. *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse.* 88, 193-239.
- Bai, J., Xu, D.H., Kang, H.M., Chen, K., and Wang, G., 2008.** Photoprotective function of photorespiration in *Reaumuria soongorica* during different levels of drought stress in natural high irradiance. *Photosynthetica* 46, 232-237.
- Baker, N.R., and Rosenqvist, E., 2004.** Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. exp. Bot.* 55, 1607-1621.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M., 2008.** Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem. Toxicol.* 46, 446-475.
- Balaguer, L., Pugnaire, F.I., Martinez-Ferri, E., Armas, C., Valladares, F., and Manrique, E., 2002.** Ecophysiological significance of chlorophyll loss and reduced photochemical efficiency under extreme aridity in *Stipa tenacissima* L. *Plant Soil* 240, 343-352.
- Baquadano, F.J. and Castillo, F.J. 2007.** Drought tolerance in the Mediterranean species *Quercus coccifera*, *Quercus ilex*, *Pinus halepensis*, and *Juniperus phoenicea*. *Photosynthetica* 45, 229-238.
- Baquadano, F.J., Valladares, F., Castillo, F.J., 2008.** Phenotypic plasticity blurs ecotypic divergence in the response of *Quercus coccifera* and *Pinus halepensis* to water stress. *Eur J Forest Res.* 127, 495-506.

- Baraldi, R., Canaccini, F., Cortes, S., Magnani, F., Rapparini, F., Zamboni, A., and Raddi, S., 2008.** Role of xanthophyll cycle-mediated photoprotection in *Arbutus unedo* plants exposed to water stress during the Mediterranean summer. *Photosynthetica* 46, 378-386.
- Barazani, O., Dudai, N., and Golan-Goldhirsh, A., 2003.** Comparison of Mediterranean *Pistacia lentiscus* genotypes by random amplified polymorphic DNA, chemical, and morphological analyses. *Journal of Chemical Ecology* 29, 1939-1952.
- Barazani, O., and Golan-Goldhirsh, A., 2009.** Salt-driven interactions between *Pistacia lentiscus* and *Salsola inermis*. *Environ. Sci. Poll. Res.* 16, 855-861.
- Barnola, L.F., Cedeño, A., and Hasegawa, M., 1997.** Intraindividual variations of volatile terpene contents in *Pinus caribaea* needles and its possible relationship to *Atta laevigata* herbivory. *Biochem. Syst. Ecol.* 25, 707-716.
- Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., and Angioni, A., 2007.** Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 55, 7093-7098.
- Barrero, A.F., Herrador, M.M., Arteaga, J.F., Akssira, M., Mellouki, F., Belgarrabe, A., and Blaquez, M.A., 2005.** Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. *J. Essent. Oil Res.* 17, 52-54.
- Basyuni, M., Baba, S., Inafuku, M., Iwasaki, H., Kinjo, K., and Oku, H., 2009.** Expression of terpenoid synthase mRNA and terpenoid content in salt stressed mangrove. *Journal of Plant Physiology* 166, 1786-1800.
- Belhadj, S., Derridj, A., Aigouy, T., Gers, C., Gauquelin, T., and Mevy, J.P., 2007.** Comparative morphology of leaf epidermis in eight populations of Atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., Anacardiaceae). *Microsc. Res. Tech.* 70, 837-846.
- Belhadj, S., 2007.** Etude eco-botanique de *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae) en Algérie, préalable à la conservation des ressources génétiques de l'espèce et à sa valorisation. Thèse de Doctorat d'Etat, U.M.M.T.O. 184 p.
- Belhadj, S., Derridj, A., Auda, Y., Gers, C., and Gauquelin, T., 2008.** Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Can. J. Bot./Rev. Can. Bot.* 86, 520-532.
- Ben Ahmed, C., Ben Rouina, B., Sensoy, S., Boukhris, M., and Ben Abdallah, F., 2009.** Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environ. Exp. Bot.* 67, 345-352.
- Ben Douissa, F., Hayder, N., Chekir-Ghedira, L., Hammami, M., Ghedira, K., Mariotte, A.M., and Dijoux-Franca, M.G., 2005.** New study of the essential oil from leaves of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from Tunisia. *Flavour Fragr. J.* 20, 410-414.

- Benhammou, N., Bekkara, F.A., and Panovska, T.K., 2008.** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 2, 022-028.
- Benhassaini, H., Bendahmane, M., and Benchalga, N., 2007.** The chemical composition of fruits of *Pistacia atlantica* Desf. subsp *atlantica* from Algeria. *Chem. Nat. Compd.* 43, 121-124.
- Bernacchi, C.J. Portis, A.R., Nakano, H., Von Caemmerer, S., and Long, S.P., 2002.** Temperature Response of Mesophyll Conductance. Implications for the Determination of Rubisco Enzyme Kinetics and for Limitations to Photosynthesis in Vivo. *Plant Physiology* 130, 1992-1998.
- Bezić, N., Dunkić, V., and Radonić, A., 2003.** Anatomical and chemical adaptation of *Spartium junceum* L. in arid habitat. *Acta Biologica Cravoviensia Series Botanica* 45, 43-47.
- Bilger, W., and Björkman, O., 1990.** Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynth. Res.* 25, 173-185.
- Bilger, W., Rolland, M., and Nybakken, L., 2007.** UV screening in higher plants induced by low temperature in the absence of UV-B radiation. *Photochem. Photobiol. Sci.* 6, 190-195.
- Biswas, K.K., Foster, A.J., Aung, T., and Mahmoud, S.S., 2009.** Essential oil production: relationship with abundance of glandular trichomes in aerial surface of plants. *Acta Physiol. Plant.* 31, 13-19.
- Björkman, O., and Demmig, B., 1987.** Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170, 489-504.
- Blanch, J.S., Peñuelas, J., Sardans, J., and Llusà, J., 2009.** Drought, warming and soil fertilization effects on leaf volatile terpene concentrations in *Pinus halepensis* and *Quercus ilex*. *Acta Physiol. Plant.* 31, 207-218.
- Blumthaler, M., Ambach, W., and Ellinger, R., 1997.** Increase in solar UV radiation with altitude. *J. Photochem. Photobiol.* 39, 130-134.
- Bolink, E.M., Schalkwijk, I.V., Posthumus, F., and Van Hasselt, P.R., 2001.** Growth under UV-B radiation increases tolerance to high-light stress in pea and bean plants. *Plant Ecology* 154, 149-156.
- Bonn, B., and Moortgat, G.K., 2003.** Sesquiterpene ozonolysis: Origin of atmospheric new particle formation from biogenic hydrocarbons: *Geophysical Research Letters*, v. 30
- Bosabalidis, A.M., and Skoula, M., 1998.** A comparative study of the glandular trichomes on the upper and lower leaf surfaces of *Origanum intercedens* Rech. *J. Essent. oil Res.* 10, 277-286.

- Bosabalidis, A.M., and Kofidis, G., 2002.** Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. *Plant Sci.* 163, 375-379.
- Boughalleb, F., and Hajlaoui, H., 2011.** Physiological and anatomical changes induced by drought in two olive cultivars (cv Zalmati and Chemlali). *Acta Physiologiae Plantarum* 33, 53-65.
- Boulos, L., 2000.** Flora of Egypt. Geraniaceae-Boraginaceae. Al hadara Publishing. 2, 75-77.
- de Brito, G.G., Sofiatti, V., de Andrade Lima, M.M., de Carvalho, L.P., and da Silva Filho, J.L., 2011.** Physiological traits for drought phenotyping in cotton. *Maringá* 33, 117-125.
- Bryan, J., Chapin III, F.S., and Klein, D., 1983.** Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*. v 40.
- Bülow, N., and König, W.A., 2000.** The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. *Phytochemistry* 55, 141-168.
- Bussotti, F., Bettini, D., Grossoni, P., Mansuino, S., Nibbi, R., Soda, C., and Tani, C., 2002.** Structural and functional traits of *Quercus ilex* in response to water availability. *Environ. Exp. Bot.* 47, 11-23.
- Byrd, D.W., McArthur, E.D., Wang, H., Graham, J.H., and Freeman, D.C., 1999.** Narrow hybrid zone between two subspecies of big sagebrush, *Artemisia tridentata* (Asteraceae). VIII. Spatial and temporal pattern of terpenes. *Biochem. Syst. Ecol.* 27, 11-25.
- Cai, Y.F., Zhang S.B., Hu, H., and Li, S.Y., 2010.** Photosynthetic performance and acclimation of *Incarvillea delavayi* to water stress. *Biologia Plantarum* 54, 89-96.
- Cambrollé, J., Redondo-Gómez, S., Mateos-Naranjo, E., Luque, T., and Figueroa, M.E., 2011.** Physiological responses to salinity in the yellow-horned poppy, *Glaucium flavum*. *Plant Physiology and Biochemistry* 49, 186-194
- Canard, D., Perru, O., Tauzin, V., Devillard, C., and Bonhoure, J.P., 1997.** Terpene composition variations in diverse provenances of *Cedrus libani* (A.) Rich. And *Cedrus atlantica* Manet. *Trees* 11, 504-510.
- Castola, V., Bighelli, A., and Casanova, J., 2000.** Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 79-88.
- Castro-Diez, P., Villar-Salvador, P., Perez-Rontome, C., Maestro-Martinez, M., and Montserrat Marti, G., 1998.** Leaf morphology, leaf chemical composition and stem xylem characteristics in two *Pistacia* (Anacardiaceae) species along a climatic gradient. *Flora* 193, 195-202.

- Castro-Diez, P., and Montserrat Marti, G., 1998.** Phenological pattern of fifteen Mediterranean phanerophytes from *Quercus ilex* communities of NE-Spain. *Plant Ecology* 139, 103-112.
- Cavar, S., Maksimovic, M., Solic, M.E., Jerkovic-Mujkic, A., and Besta, R., 2008.** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chem.* 111, 648-653.
- Cechin, I., Rossi, S.C., Oliveira, V.C., and Fumis, T.F., 2006.** Photosynthetic responses and proline content of mature and young leaves of sunflower plants under water deficit. *Photosynthetica* 44, 143-146.
- Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M., and Stocker, P., 2008.** Determination of the fatty acid composition of acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* seeds growing in Algeria. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85, 921-924.
- Chatzissavvidis, C., Veneti, G., Papadakis, I. and Therios, I., 2008.** Effect of NaCl and CaCl₂ on the antioxidant mechanism of leaves and stems of the rootstock CAB-6P (*Prunus cerasus* L.) under in vitro conditions. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 95, 37-45
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., and Pereira, J.S., 2003.** Understanding plant responses to drought: from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* 30, 239-264.
- Chaves, M.M., Flexas, J., and Pinheiro, C., 2009.** Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* 103, 551-560.
- Chen, J.W., Bai, K.D., and Cao, K.F., 2009.** Inhibition of monoterpene biosynthesis accelerates oxidative stress and leads to enhancement of antioxidant defenses in leaves of rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Acta Physiol. Plant.* 31, 95-101.
- Choudhury, N.K., and Behera, R.K., 2001.** Photoinhibition of photosynthesis: Role of carotenoids in photoprotection of chloroplast constituents. *Photosynthetica* 39, 481-488.
- Ciais, P., Reichstein, M., and Viovy, N., 2005.** Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature* 437, 529-533.
- Clément, V., 2005.** Les feux de forêt en Méditerranée : un faux procès contre Nature. *In* I. 2701141664 (Eds.). Espace géographique. 289-304 pp.
- Comstock, J.P., 2002.** Hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and transpiration. *J. Exp. Bot.* 53, 195-200.
- Congiu, R., Falconieri, D., Marongiu, B., Piras, A., and Porcedda, S., 2002.** Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO₂. *Flavour Fragr. J.* 17, 239-244.

- Copolovici, L. O., Filella, I., Llusà, J., Niinemets, U., and Peñuelas, J., 2005.** The capacity for thermal protection of photosynthetic electron transport varies for different monoterpenes in *Quercus ilex*. *Plant Physiology* 139, 485-496.
- Corcuera, L., Morales, F., Abadía, A., and Gil-Plegrin, E., 2005.** The effect of low temperature on the photosynthetic apparatus of *Quercus ilex* subsp. *ballota* at its lower and upper altitudinal limits in the Iberian Peninsula and during a single freezingthawing cycle. – *Trees* 19, 99-108.
- Cornic, G., and Fresneau, C., 2002.** Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for photosystem II activity during a mild drought. *Annals of Botany* 89, 887-894.
- Correia, O. and Diaz Barradas, C., 2000.** Ecophysiological differences between male and female plants of *Pistacia lentiscus* L. *Plant Ecology* 149, 131-142.
- Cortina, J., Green, J.J., and Baddeley, J.A., 2008.** Root morphology and water transport of *Pistacia lentiscus* seedlings under contrasting water supply: A test of the pipe stem theory. *Environmental and Experimental Botany* 62, 343-350.
- Covello, P.S., Teoh, K.H., Polichuk, D.R., Reed, D.W., and Nowak, G., 2007.** Functional genomics and the biosynthesis of artemisinin. *Phytochemistry* 68, 1864-1871.
- Cuevas, E., Baeza, P., and Lissarrague, J.R., 2006.** Variation in stomatal behaviour and gas exchange between mid-morning and mid-afternoon of north-south oriented grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo) at different levels of soil water availability. *Scientia Hort.* 108, 173-180.
- Danin, A., 1983.** Anacardiaceae *In*: Desert Vegetation of Israel and Sinai. Cana, Jerusalem. Pp. 102-104.
- Degenhardt, J., Köllner, T.G., and Degenhardt, J.G., 2009.** Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, doi:10.1016/j.phytochem.2009.07.030
- Delazar, A., Reid, R.G., and Sarker, S.D., 2004.** GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* VAR. *mutica*. 40, 24-27.
- Delfine, S., Csiky, O., Seufert, G., and Loreto, F., 2000.** Fumigation with exogenous monoterpenes of a non-isoprenoid-emitting oak (*Quercus suber*): monoterpene acquisition, translocation, and effect on the photosynthetic properties at high temperatures, *New Phytologist* 146, 27-36.
- Delfine, S., Loreto, F., Pinelli, P., Tognetti, R., and Alvino, A., 2005.** Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress: *Agriculture Ecosystems & Environment* 106, 243-252.

- Demmig-Adams, B., Adams, W.W.III., Winter, K., Meyer, A., Schreiber, U., Pereira, J.S., Krüger, A., Czygan, F.C., and Lange, O.L., 1989.** Photochemical efficiency of photosystem II, photon yield of O₂ evolution, photosynthetic capacity, and carotenoid composition during the midday depression of net CO₂ uptake in *Arbutus unedo* growing in Portugal. *Planta* 177, 377-387.
- Deyson, G., 1982.** Eléments d'anatomie des plantes vasculaires. Vol II, ED. SEDS, 220p.
- Dias, M.C., and Brüggemann, W., 2010.** Limitations of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* under drought stress: gas exchange, chlorophyll fluorescence and Calvin cycle enzymes. *Photosynthetica* 48, 96-102.
- Díaz-Barradas, M.C., and Correia, O., 1999.** Sexual dimorphism, sex ratio and spatial distribution of male and female shrubs in the dioecious species *Pistacia lentiscus* L. *Folia Geobotanica* 34, 163-174.
- Díaz-Barradas, M.C., Zunzunegui, M., Ain-Lhout, F., Jáuregui, J., Boutaleb, S., Álvarez-Cansino, L., and Esquivias, M.P., 2010.** Seasonal physiological responses of *Argania spinosa* tree from Mediterranean to semi-arid climate. *Plant Soil* 337, 217-231.
- Di Castri, F., 1973.** Climatographical comparisons between Chile and the western coast of North America. In: Di Castri, F., Mooney, H.A. (ed.): *Mediterranean Type Ecosystems*. Pp. 21- 36. Springer-Verlag, Berlin.
- Dicke, M., and Van Loon, J.J., 2000.** Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context: *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97, 237-249.
- Ding, F., Chen, M., Sui, N., and Wang, B.S., 2010.** Ca²⁺ significantly enhanced development and salt-secretion rate of salt glands of *Limonium bicolor* under NaCl treatment. *South African Journal of Botany* 76, 95-101.
- Dob, T., Dahmane, D., and Chelghoum, C., 2006.** Chemical composition of the essential oils of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *J. Essent. Oil Res.* 18, 335-338.
- Dodd, A.N., Kudla, J., and Sanders, D., 2010.** The language of calcium signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61, 593-620.
- Dogan, Y., Baslar, S., Aydin, H., and Mert, H.H., 2003.** A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolian part of Turkey. *Acta Bot. Croat.* 62, 73-88.
- Dray, S., Dufour, A.B., and Chessel, D., 2007.** The ade4 package-II: Two-table and K-table methods. *R News* 7, 47-52.
- Dudareva, N., Pichersky, E., and Gershenzon, J., 2004.** Biochemistry of Plant Volatiles: *Plant Physiol.* 135, 1893-1902.

- Dudareva, N., Andersson, S., Orlova, I., Gatto, N., Reichelt, M., Rhodes, D., Boland, W., and Gershenzon, J., 2005.** The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, p. 933-938.
- Duru, M.E., Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Harmandar, M., Izumi, S., and Hirata, T., 2003.** Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia* 74, 170-176.
- Eberhardt, T.L., Sheridan, P.M., and Mahfouz, J.M., 2009.** Monoterpene persistence in the sapwood and heartwood of longleaf pine stumps: assessment of differences in composition and stability under field conditions. *Can. J. For. Res.-Rev. Can. Rech. For.* 39, 1357-1365.
- Einhorn, K.S., Rosenqvist, E., and Levernez, J.W., 2004.** Photoinhibition in seedlings of *Fraxinus* and *Fagus* under natural light conditions: implications for forest regeneration? *Oecologia* 140, 241-251.
- El-Oqlah, A.A., 1995.** Biosystematic research on the genus *Pistacia* in Jordan. In *Taxonomy, distribution, conservation and uses of Pistacia genetic resources*. Proceedings of the IPGRI Workshop 29-30 June 1995. Edited by S. Padulosi, T. Caruso & E. Barone. Palermo, Italy. Pp. 12-19.
- Elsheery, N.I., and Cao, K.F., 2008.** Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress; *Acta Physiologiae Plantarum* 30, 769-777.
- Estévez, J.M., Cantero, A., Reindl, A., Reichler, S., and León, P., 2001.** 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, a limiting enzyme for plastidic isoprenoid biosynthesis in plants. *Journal of Biological Chemistry* 276, 22901-22909.
- Fahn, A., 1979.** *Secretory Tissues in Plants*; Academic Press: London, UK.
- Farhad, M.S., Babak, A.M., Reza, Z.M., Hassan, R.S.M., and Afshin, T., 2011.** Response of proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.) to different irrigation regimes in greenhouse condition. *Australian Journal of Crop Science*. 5, 55-60.
- Fernandez, A., Camacho, A., Fernandez, C., Altarejos, A., and Perez, P., 2000.** Composition of the essential oils from galls and aerial parts of *Pistacia lentiscus* L. *J. Essent. Oil Res.* 12, 19-23.
- Fernandez, C., Monnier, Y., Ormeño, E., Baldy, V., Greff, S., Pasqualini, V., Mevy, J.P., and Bousquet-Mélou, A., 2009.** Variations in Allelochemical Composition of Leachates of Different Organs and Maturity Stages of *Pinus halepensis*. *J. Chem. Ecol.* 35, 970-979.

- Fillela, I., Llusà, J., Piñol, J., and Peñuelas, J., 1998.** Leaf gas exchange and fluorescence of *Phillyrea latifolia*, *Pistacia lentiscus* and *Quercus ilex* saplings in severe drought and high temperature conditions. *Environmental and Experimental Botany* 39, 213-220.
- Fischbach, R.J., Staudt, M., Zimmer, I., Rambal, S., and Schnitzler, J.P., 2002.** Seasonal pattern of monoterpene synthase activities in leaves of the evergreen tree *Quercus ilex*. *Physiologia Plantarum* 114, 354-360.
- Flamini, G., Bader, A., Cioni, P.L., Katbeh-Bader, A. and Morelli, I., 2004.** Composition of the essential oil of leaves, galls, and ripe and unripe fruits of Jordanian *Pistacia palaestina* Boiss. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 52, 572-576.
- Fleck, I., Diaz, C., Pascual, M., and Iniguez, F.J., 1995.** Ecophysiological differences between first-year resprouts after wildfire and unbured vegetation of *Arbutus unedo* and *Coriaria myrtifolia*. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology* 16, 55-69.
- Flexas, J., Escalona, J.M., and Medrano, H., 1999.** Water stress induces different levels of photosynthesis and electron transport rate regulation in grapevines. *Plant, Cell and Environment* 22, 39-48.
- Flexas, J., Gilàs, J., Jonasson, S., Medrano, H., and Mus, M., 2001.** Seasonal patterns and control of gas exchange in local populations of the Mediterranean evergreen shrub *Pistacia lentiscus* L. *Acta oecologica* 22, 33-43.
- Flexas, J., and Medrano, H., 2002.** Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany* 89, 183-189.
- Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., and Sharkey, T.D., 2004.** Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. *Plant Biology* 6, 269-279.
- Flexas, J., Bota, J., Galmes, J., Medrano, H., and Ribas-Carbo, M., 2006.** Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* 127, 343-352.
- Flexas, J., Ribas-Carbo, M., Diaz-Espejo, A., Galmés, J., and Medrano, H., 2008.** Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell & Environment* 31, 602-621.
- Foyer, C., Furbank, R., Harbinson, J., and Horton, P., 1990.** The mechanisms contributing to photosynthetic control of electron-transport by carbon assimilation in leaves. *Photosynthesis research* 25, 83-100.
- Foyer, C.H., Lelandais, M., and Kunert, K.J., 1994.** Photooxidative stress in plants. *Physiol Plant* 92, 696-717.
- Francesco, L., and Sebastiano, D., 2000.** Emission of isoprene from salt stress *Eucalyptus globulus* leaves. *Plant Physiol.* 123, 1605-1610.

- Franks, P.J., Drake, P.L., and Beerling, D.J., 2009.** Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlation between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus globules*. *Plant, Cell and Environment* 32, 1737-1748.
- Fridman, E., Wang, J.H., Iijima, Y., Froehlich, J.E., Gang, D.R., Ohlrogge, J., and Pichersky, E., 2005.** Metabolic, genomic, and biochemical analyses of glandular trichomes from the wild tomato species *Lycopersicon hirsutum* identify a key enzyme in the biosynthesis of methylketones. *Plant Cell* 17, 1252-1267.
- Fu, Q.S., Zhao, B., Wang, Y.J., Ren, S., and Guo, Y.D., 2011.** Stomatal development and associated photosynthetic performance of *Capsicum* in response to differential light availabilities. *Photosynthetica* 48, 189-198.
- Gairola, S., Naidoo, Y., Bhatt, A., and Nicholas, A., 2009.** An investigation of the foliar trichomes of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae): An important medicinal plant of southern Africa. *Flora* 204, 325-330.
- Gallé, A., Haldimann, P., and Feller, U., 2007.** Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during droughtstress and recovery. *New Phytologist* 174, 799-810.
- Galle, A., Florez-Sarasa, I., Thameur, A., de Paepe, R., Jaume Flexas, J., and Ribas-Carbo, M., 2010.** Effects of drought stress and subsequent rewatering on photosynthetic and respiratory pathways in *Nicotiana sylvestris* wild type and the mitochondrial complex I-deficient CMSII mutant. *Journal of Experimental Botany* 61, 765-775.
- Galmés, J., Medrano, H., and Flexas, J., 2007.** Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytol.* 175, 81-93.
- Galmés, J., Conesa, M.A., Ochogavía, J.M., Perdomo, J.A., Francis, D.M., Ribas-Carbó, M., Savé, R., Flexas, J., Medrano, H., and Josep Cifre, J., 2011.** Physiological and morphological adaptations in relation to water use efficiency in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*. *Plant, Cell and Environment* 34, 245-260.
- Gambliel, H.A., and Cates, R.G., 1995.** Terpene Changes Due to Maturation and Canopy Level in Douglas-Fir (*Pseudotsuga-menziesii*) Flush Needle Oil. *Biochem. Syst. Ecol.* 23, 469-476.
- Garcia-Mendoza, E., Matthijs, H.C.P., Schubert, H., and Mur, L.R., 2002.** Non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in *Chlorella fusca* acclimated to constant and dynamic light conditions. *Photosynthesis Research* 74, 303-315.
- García-Plazaola, I.J., Esteban, R., Hormaetxe, K., Fernández-Marín, B., and Becerril, J.M., 2008.** Photoprotective responses of Mediterranean and Atlantic trees to the extreme heat-wave of summer 2003 in Southwestern Europe. *Trees* 22, 385-392.

- Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., and Komaitis, M., 2008.** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chem.* *107*, 1120-1130.
- Gatehouse, J.A., 2002.** Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction: *New Phytologist* *156*, 145-169.
- Gaussen, H., Leroy, J.F., et Ozenda, P., 1982.** Précis de Botanique. Tome II. Les végétaux supérieurs, 579p
- Genty, B., Briantais, J.M., and Baker, N.R., 1989.** The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta.* *990*, 87-92.
- Gershenzon, J., and Croteau, R., 1991.** Terpenoids, pp. 165-219, in G. A. Rosenthal and M. R. Berenbaum (eds.). *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. Academic Press, New York.
- Gershenzon, J., and Kreis, W., 1999.** Biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, sterols, cardiac glycosides and steroid saponins. In *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*, Annual Plant Reviews, Vol. 2, M. Wink, ed (Sheffield: Sheffield Academic Press), pp. 222–299
- Gershenzon, J., McConkey, M.E., and Croteau, R.B., 2000.** Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant. Physiol.* *122*, 205-213.
- Giuliani, C., and Bini, L.M., 2008.** Insight into the structure and chemistry of glandular trichomes of Labiatae, with emphasis on subfamily Lamioideae. *Plant Syst. Evol.* *276*, 199-208.
- Gonzalez, A., Bermejo, V., and Gimeno, B.S., 2010.** Effect of different physiological traits on grain yield in barley grown under irrigated and terminal water deficit conditions. *J. Agric. Sci.* *148*, 319-328.
- Gorai, M., Ennajeh, M., Khemiran, H., and Neffati, M., 2011.** Influence of NaCl-salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute accumulation in *Phragmites australis* *Acta Physiologiae Plantarum* *33*, 963-971.
- Gourine, N., Yousfi, M., Nadjemi, B., and Bombarda, I., 2009.** Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of leaves of *Pistacia atlantica* Desf. from Algeria. *Asian J. Chem.* *21*, 1249-1257.
- Gratani, L., and Varone, L., 2004.** Adaptive photosynthetic strategies of the Mediterranean maquis species according to their origin. *Photosynthetica* *42*, 551-558.
- Groen, K.E., Stieha, C.R., Crowley, P.H., and McLetchie, D.N., 2010.** Sex-specific plant responses to light intensity and canopy openness: implications for spatial segregation of the sexes. *Oecologia* *162*, 561-570.

- Grundwag, M., 1976.** Embryology and fruit development in four species of *Pistacia* L. (Anacardiaceae). Botanical Journal of the Linnean Society, 73, 355-370.
- Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Chaibi, W., and Zarrouk, M., 2009.** Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Sci. Hortic. 119, 257-263.
- Guignard, J.L., Cosson, L., et Henry, M., 1985.** Abrégé de Phytochimie, Ed. Masson, 224p.
- Gulías, J., Flexas, J., Abadía, A., and Medrano, H., 2002.** Photosynthetic responses to water deficit in six Mediterranean sclerophyll species: possible factors explaining the declining distribution of *Rhamnus ludovici-salvatoris*, an endemic Balearic species. Tree Physiology 22, 687-697.
- Gulías, J., Cifre, J., Jonasson, S., Medrano, H., and Flexas, J., 2008.** Seasonal and inter-annual variations of gas exchange in thirteen woody species along a climatic gradient in the Mediterranean island of Mallorca. Flora doi:10.1016/j.flora.2008.01.011
- Haider, F., Kumar, N., Banerjee, S., Naqvi, A.A., and Bagchi, G.D., 2009.** Effect of Altitude on the essential Oil Constituents of *Artemisia roxburghiana* Besser var. *purpurascens* (Jacq.) Hook. J. Essent. Oil Res. 21, 303-304.
- Haimeirong and Kubota, F., 2003.** The effects of drought stress and leaf ageing on leaf photosynthesis and electron transport in photosystem 2 in sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) cultivars. Photosynthetica 41, 253-258.
- Hall, A.E., 2001.** Crop responses to environment. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida.
- Hamilton, J.G., Zangerl, A.R., Delucia, E.H., and Berenbaum, M.R., 2001.** The carbon:nutrient balance hypothesis: its rise and fall: Ecology letters 4, 86-95.
- Han, W., Xu, X.W., Li, L., Lei, J.Q. and Li, S.Y., 2010.** Chlorophyll *a* fluorescence responses of *Haloxylon ammodendron* seedlings subjected to progressive saline stress in the Tarim desert highway ecological shelterbelt. Photosynthetica 48, 635-640.
- Hanson, D.T., and Sharkey, T.D., 2001.** Effect of growth conditions on isoprene emission and other thermotolerance-enhancing compounds, Plant, Cell Environ. 24, 929-936.
- Haupt-Herting, S., and Fock, H.P., 2002.** Oxygen exchange in relation to carbon assimilation in water-stressed leaves during photosynthesis. Annals of Botany 89, 851-859.
- Heiden, A.C., Hoffmann, T., Kahl, J., Kley, D., Klockow, D., Langebartels, C., Mehlhorn, H., Sandermann, H., Schraudner, M., Schuh, G., and Wildt, J., 1999.** Emission of volatile organic compounds from ozone-exposed plants: Ecological Applications 9, 1160-1167.

- Hemming, J.C.D., and Lindroth, R.L., 1999.** Effects of light and nutrient availability on ASPEN: growth, phytochemistry, and insect performance. *Journal of Chemical Ecology* 25, 1687-1714.
- Herms, D.A., and Mattson, W.J., 1992.** The dilemma of plants - to Grow or Defend. *Quarterly Review of Biology*. 67, 283-335.
- Hessini, K., Martínez, J.P., Gandour, M., Albouchi, A., Soltani, A., and Abdelly, C., 2009.** Effect of water stress on growth, osmotic adjustment, cell wall elasticity and water-use efficiency in *Spartina alterniflora*. *Environ. Exp. Bot.* 67, 312–319.
- Hillig, K.W., 2004.** A chemotaxonomic analysis of terpenoid variation in Cannabis. *Biochem. Syst. Ecol.* 32, 875-891.
- Hoballah, M.E.F., Tamo, C., and Turlings, T.C.J., 2002.** Differential attractiveness of induced odors emitted by eight maize varieties for the parasitoid *Cotesia marginiventris*: Is quality or quantity important?. *Journal of Chemical Ecology* 28, 951-968.
- Holbrook, N.M., Shashidhar, V.R., James, R.A., and Munns, R., 2002.** Stomatal control in tomato with ABA-deficient roots: response of grafted plants to soil drying. *J. Exp. Bot.* 53, 1503-1514.
- Huang, X., Xiao, X., Zhang, S., Korpelainen, H., and Li, C., 2009.** Leaf morphological and physiological responses to drought and shade in two *Populus cathayana* populations. *Biol. Plant.* 53, 588-592.
- Huber, D.P.W., Ralph, S., and Bohlmann, J., 2004.** Genomic hardwiring and phenotypic plasticity of terpenoid-based defenses in conifers: *Journal of Chemical Ecology* 30, 2399-2418.
- Hudaib, M., and Aburjai, T., 2007.** Volatile components of *Thymus vulgaris* L. from wild-growing and cultivated plants in Jordan. *Flavour Fragr. J.* 22, 322-327.
- Hussain, A.I., Anwar F., Sherazi S.T.H., and Przybylski, R., 2008.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.* 108, 986-995.
- Ibanez, J., and Usubillaga, A., 2006.** Analysis of the essential oil of two different altitudinal populations of *Coespeletia moritziana* (Sch Bip.ex Wedd) cuatrec. *Flavour and Fragrance Journal* 21, 760-763.
- Ierna, A., 2007.** Characterization of potato genotypes by chlorophyll fluorescence during plant aging in a Mediterranean environment. *Photosynthetica* 45, 568-575.
- Inderjit, Dakshini, K.M.M., and Foy, C.L., 1999.** Principles and Practices in Plant Ecology: Allelochemical Interactions. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida.

- Ioannidis, D., Bonner, L., and Johnson, C.B., 2002.** UV-B is Required for Normal Development of Oil Glands in *Ocimum basilicum* L. (Sweet Basil). *Annals of Botany* 90, 453-460.
- Ivanov, A.G, Sane, P.V., Hurry, V., Oquist, G., and Huner, N.P.A., 2008.** Photosystem II reaction centre quenching: mechanisms and physiological role. *Photosynthesis Research* 98, 565-574.
- Jaakola, L., Mättä-Riihinen, K., Kärenlampi, S., and Hohtola, A., 2004.** Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. *Planta* 218, 721-728.
- Janakat, S., and Al-Merie, H., 2002.** Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *J. Ethnopharmacol.* 83, 135-138.
- Jithesh, M.N., Prashanth, S.R., Sivaprakash, K.R., and Parida, A., 2006.** Monitoring expression profiles of antioxidant genes to salinity, iron, oxidative, light and hyperosmotic stresses in the highly salt tolerant grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. by mRNA analysis. *Plant Cell Rep.* 25, 865-876.
- Johnson, C.B., Kirby, J., Naxakis, G., and Pearson, S., 1999.** Substantial UV-B-mediated induction of essential oils in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Phytochemistry* 51, 507-510.
- Jonasson, S., Medrano, H., and Flexas, J., 1997.** Variation in leaf longevity of *Pistacia lentiscus* and its relationship to sex and drought stress inferred from leaf $\delta^{13}\text{C}$. *Functional Ecology* 11, 282-289.
- Jordano, P., 1989.** Polinización y variabilidad de la producción de semillas de *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 45, 213-231.
- Kainulainen, P., Utriainen, J., Holopainen, J.K., Oksanen, J., and Holopainen, T., 2000.** Influence of elevated ozone and limited nitrogen availability on conifer seedlings in an open-air fumigation system: effects on growth, nutrient content, mycorrhiza, needle ultrastructure starch and secondary compounds. *Glob. Chang Biol.* 6, 345-355.
- Kaiser, H., and Kappen, L., 2000.** *In situ* observation of stomatal movements and gas exchange of *Aegopodium podagraria* L. in the understorey. *J. Exp. Bot.* 51, 1751-1749.
- Kakani, V.G., Reddy, K.R., Zhao, D., and Mohammed, A.R., 2003.** Effects of ultraviolet-B radiation on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. *Annals of Botany* 91, 817-826.
- Kanai, M., Higuchi, K., Hagihara, T., Konishi, T., Ishii, T., Fujita, N., Nakamura, Y., Maeda, Y., Yoshida, M., and Tadano, T., 2007.** Common reed produces starch granules at the shoot base in response to salt stress. *New Phytologist* 176, 572-580.
- Kaska, N., 1994.** Choice and breeding of *Pistacia* root stocks. CIHEAM. FAO. Cours approfondi- Production et économie des fruits secs. Reus (Tarragona). 8p.

- Kelen, M., and Tepe, B., 2008.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology* 99, 4096-4104.
- Kesselmeier, J., and Staudt, M., 1999.** Biogenic Volatile Organic Compounds (VOC): an overview on emission, physiology and ecology. *Journal of Atmospheric Chemistry* 33, 23-88.
- Kirby, J., and Keasling J.D., 2009.** Biosynthesis of Plant Isoprenoids: Perspectives for Microbial Engineering. *Ann. Rev. Plant Biol.* 60, 335-355.
- Kivcak, B., Akay, S., Demirci, B., and Baker, K.H.C., 2004.** Chemical composition of essential oils from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* from Turkey. *Pharmaceutical Biology* 42, 360-366.
- Kobayashi, H., Inoue, S., and Gyokusen, K., 2010.** Spatial and temporal variations in the photosynthesis-nitrogen relationship in a Japanese cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don) canopy. *Photosynthetica* 48, 249-256.
- Kofidis, G., Bosabalidis, A., and Moustakas, M., 2003.** Contemporary seasonal and altitudinal variations of leaf structural features in Oregano (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany* 92, 635-645.
- Kokwaro, J.O., and Gillett, J.B., 1980.** Notes on the Anacardiaceae of Eastern Africa. *Kew Bul.* 34, 745-760.
- Konovalov, D.A., 1995.** Natural azulenes in plants. *Rastitelnye Resursy* (Plant Resources, Russia) 31, 101-132.
- Koricheva, J., 2002.** The Carbon-Nutrient Balance Hypothesis is dead; long live the carbonnutrient balance -hypothesis? *Oikos* 98, 537-539.
- Krak, K., and Mraz, P., 2008.** Trichomes in the tribe Lactuceae (Asteraceae) - taxonomic implications. *Biologia* 63, 616-630.
- Krause, G.H., 1988.** Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiol. Plant.* 74, 566-574.
- Kusaka, M., Antonio, G.L., and Tatsuhito, F., 2005.** The maintenance of growth and turgor in pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) Leeke] cultivars with different root structures and osmo-regulation under drought stress. *Plant Sci.* 168, 1-14.
- Kyparissis, A., Drilias, P., and Manetas, Y., 2000.** Seasonal fluctuations in photoprotective (xanthophyll cycle) and photoselective (chlorophylls) capacity in eight Mediterranean plant species belonging to two different growth forms. *Aust. J. Plant. Physiol.* 27, 265-272.
- Lammertsmaa, E.I., de Boerb, H.J., Dekkerb, S.C., Dilcherc, D.L., Lottera, A.F., and Wagner-Cremiera, F., 2011.** Global CO₂ rise leads to reduced maximum stomatal conductance in Florida vegetation. *Environmental Sciences* 108, 4035-4040.

- Lang, K.J., 1994.** *Abies-Alba* Mill - Differentiation of Provenances and Provenance Groups by the Monoterpene Patterns in the Cortex Resin of Twigs. *Biochem. Syst. Ecol.* 22, 53-63.
- Langenheim, J.H., 1994.** Higher-Plant Terpenoids - a Phytocentric Overview of Their Ecological Roles. *Journal of Chemical Ecology* 20, 1223-1280.
- Laporte, M.M., and Delph, L.F., 1996.** Sex-specific physiology and source-sink relations in the dioecious plant *Silene latifolia*. *Oecologia* 106, 63-72.
- Latta, R.G., Linhart, Y.B., Lundquist, L., and Snyder, M.A., 2000.** Patterns on monoterpenes variation within individual trees in Ponderosa Pine. *Journal of Chemical Ecology* 26, 1341-1357.
- Läuchli, A., James, R.A., Huang, C.X., McCully, M., and Munns, R., 2008.** Cell-specific localization of Na⁺ in roots of durum wheat and possible control points for salt exclusion. *Plant, Cell and Environment* 31, 1565-1574.
- Lavoir, A.V., Staudt, M., Schnitzler, J.P., Landais, D., Massol, F., Rocheteau, A., Rodriguez, R., Zimmer, I., and Rambal, S., 2009.** Drought reduced monoterpene emissions from the evergreen Mediterranean oak *Quercus ilex*: results from a throughfall displacement experiment. *Biogeosciences* 6, 1167-1180.
- Lee, K.D., and Yang, M.S., 2005.** Changes in Mineral and Terpene Concentration Following Calcium Fertilization of *Chrysanthemum boreale* M. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 1, 222-226.
- Leisner, C.P., Cousins, A.B., Offermann, S., Okita, T.W., and Edwards, G.E., 2010.** The effects of salinity on photosynthesis and growth of the single-cell C₄ species *Bienertia sinuspersici* (Chenopodiaceae). *Photosynth Res.* 106, 201-214.
- Letchamo, W., and Vomel, A., 2001.** A comparative investigation of chamomile genotypes under extremely varying ecological conditions. *Acta Hort.* 306, 105-114.
- Letts, M.G., Phelan, C.A., Johnson, D.R.E., and Rood, S.B., 2008.** Seasonal photosynthetic gas exchange and leaf reflectance characteristics of male and female cottonwoods in a riparian woodland. *Tree Physiology* 28, 1037-1048.
- Lichtenthaler, H.K., 1999.** The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants: *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 47-65.
- Lichtenthaler, H.K., Babani, F., Langsdorf, G., and Buschmann, C., 2000.** Measurement of differences in red chlorophyll fluorescence and photosynthetic activity between sun and shade leaves by fluorescence imaging. *Photosynthetica* 38, 521-529.
- Lichtenthaler, H.K., 2000.** Non-mevalonate isoprenoid biosynthesis: enzymes, genes and inhibitors: *Biochemical Society Transactions* 28, 785-789.

- Lichtenthaler, H.K., Langsdorf, G., Lenk, S., and Buschmann, C., 2005.** Chlorophyll fluorescence imaging of photosynthetic activity with the flash-lamp fluorescence imaging system. *Photosynthetica*, *43*, 355-369.
- Lio, A., Fukasawa, H., Nose, Y., and Kakubari, Y., 2004.** Stomatal closure induced by high vapor pressure deficit limited midday photosynthesis at the canopy top of *Fagus crenata* Blume on Naeba mountain in Japan. *Trees* *18*, 510-517.
- Litvak, M.E., and Monson, R.K., 1998.** Patterns of induced and constitutive monoterpene production in conifer needles in relation to insect herbivory. *Oecologia*, *114*, 531-540.
- Liu, C.Q., 2009.** Biogeochemical Processes and Cycling of Nutrients in the Earth's Surface: Cycling of Nutrients in Soil-Plant Systems of Karstic Environments, Southwest China. Science Press, Beijing, China.
- Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fana, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L., and Yang, R., 2011.** Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. *Environmental and Experimental Botany* *71*, 174-183
- Llusà, J., and Peñuelas J., 1998.** Changes in terpene content and emission in potted Mediterranean woody plants under severe drought. *Can. J. Bot./Rev. Can. Bot.* *76*, 1366-1373.
- Llusà, J., and Peñuelas, J., 2000.** Seasonal patterns of terpene content and emission from seven Mediterranean woody species in field conditions: *American Journal of Botany* *87*, 133-140.
- Llusà, J., Peñuelas, J., Asensio, D., and Munne-Bosch, S., 2005.** Airborne limonene confers limited thermotolerance to *Quercus ilex*. *Physiol. Plant.* *123*, 40-48.
- Llusà, J., Peñuelas, J., Prieto, P., and Estiarte, M., 2009.** Net Ecosystem Exchange and Whole Plant Isoprenoid Emissions by a Mediterranean Shrubland Exposed to Experimental Climate Change. *Russ. J. Plant Physiol.* *56*, 29-37.
- Llusà, J., Peñuelas, J., Ogaya, R., and Alessio, G., 2010.** Annual and seasonal changes in foliar terpene content and emission rates in *Cistus albidus* L. submitted to soil drought in Prades forest (Catalonia, NE Spain): *Acta Physiologiae Plantarum* *32*, 387- 394.
- Logan, B.A., and Monson, R.K., 1999.** Thermotolerance of leaf discs from four isoprene-emitting species is not enhanced by exposure to exogenous isoprene. *Plant Physiol.* *120*, 821-826.
- Logan, B.A., Monson, R.K and Potosnak, M.J., 2000.** Biochemistry and physiology of foliar isoprene production, *Plant Science* *5*, 477-481.

- Long, S.P., Humphries, S., and Falkowski, P.G., 1994.** Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant mol. Biol.* *45*, 633-662.
- Longenberger, P.S., Smith, C.W., Duke, S.E., and McMichael, B.L., 2009.** Evaluation of chlorophyll fluorescence as a tool for the identification of drought tolerance in upland cotton. *Euphytica* *166*, 25-33.
- Lootens, P., Van Waes, J., and Carlier, L., 2004.** Effect of a short photoinhibition stress on photosynthesis, chlorophyll a fluorescence, and pigment contents of different maize cultivars. Can a rapid and objective stress indicator be found ? *Photosynthetica* *42*, 187-192.
- López, M.L., Bonzani, N.E., and Zygadlo, J.A., 2008.** Allelopathic potential of *Tagetes minuta* terpenes by a chemical, anatomical and phytotoxic approach. *Biochem. Syst. Ecol.* *36*, 882-890.
- Lo Presti, M., Sciarrone, D., Crupi, M.L., Costa R., Ragusa, S., Dugo, G., and Mondello, L., 2008.** Evaluation of the volatile and chiral composition in *Pistacia lentiscus* L., essential oil. *Flavour and Fragrance Journal* *4*, 249-257.
- Loreto, F., Ciccioli, P., Cecinato, A., Brancaleoni, E., Frattoni, M., and Tricoli, D., 1996a.** Influence of environmental factors and air composition on the emission of α -pinene from *Quercus ilex* leaves. *Plant Physiol* *110*, 267-275.
- Loreto, F., Ciccioli, P., Brancaleoni, E., Cecinato, A., Frattoni, M., and Sharkey, T.D., 1996b.** Different sources of reduced carbon contribute to form three classes of terpenoid emitted by *Quercus ilex* L. leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* *93*, 9966-9969.
- Loreto, F., Förster, A., Dürr, M., Csiky, O., and Seufert, G., 1998.** On the monoterpene emission under heat stress and on the increased thermotolerance of leaves of *Quercus ilex* L. fumigated with selected monoterpenes, *Plant, Cell Environ.* *21*, 101-107.
- Loreto, F., Fischbach, R.J., Schnitzler, J.P., Ciccioli, P., Brancaleoni, E., Calfapietra, C., and Seufert, G., 2001.** Monoterpene emission and monoterpene synthase activities in the Mediterranean evergreen oak (*Quercus ilex* L.) grown at elevated CO₂ concentrations. *Global Change Biology* *7*, 709-717.
- Loreto, F., 2002.** Distribution of isoprenoid emitters in the *Quercus* genus around the world: chemo-taxonomical implications and evolutionary considerations based on the ecological function of the trait: *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* *5*, 185-192.
- Loreto, F., Pinelli, P., Manes, F., and Kollist, H., 2004.** Impact of ozone on monoterpene emissions and evidence for an isoprene-like antioxidant action of monoterpenes emitted by *Quercus ilex* leaves. *Tree Physiol.* *24*, 361-367.
- Loreto, F., and Centritto, M., 2008.** Leaf carbon assimilation in a waterlimited world. *Plant Biosystems* *142*, 154-161.

- Loreto, F., Bagnoli, F., and Fineschi, S., 2009.** One species, many terpenes: matching chemical and biological diversity: *Trends in Plant Science* 14, 416-420.
- Lorio, P.L., 1986.** Growth-Differentiation Balance - a Basis for Understanding Southern Pine-Beetle Tree Interactions: *Forest Ecology and Management* 14, 259-273.
- Lu, Q.T., and Lu, C.M., 2004.** Photosynthetic pigment composition and photosystem II photochemistry of wheat ears. *Plant Physiology and Biochemistry* 42, 395-402.
- Lukovic, J., Maksimovic, I., Zoric, L., Nagl, N., Percic, M., Polic, D., and Putnik-Delic, M., 2009.** Histological characteristics of sugar beet leaves potentially linked to drought tolerance. *Ind.Crop. Prod.* 30, 281-286.
- Ma, H., Fung L., Wang, S., Altman, A., and Hüttermann, A., 1997.** Photosynthesis response of *Populus euphratica* to salt stress. *For Ecol Manage* 93, 55–61.
- Macek, P., Mackova, J., and De Bello, F., 2009.** Morphological and ecophysiological traits shaping altitudinal distribution of three *Polylepis* treeline species in the dry tropical Andes. *Acta Oecol.* 35, 778-785.
- Mahmoud, S.S., Williams, M., and Croteau, R., 2004.** Cosuppression of limonene-3-hydroxylase in peppermint promotes accumulation of limonene in the essential oil. *Phytochemistry* 65, 547-554.
- Mai, J., Herbette, S., Vandame, M., Kositsup, B., Kasemsap, P., Cavaloc, E., Julien, J.L., Améglio, T., and Roeckel-Drevet, P., 2009.** Effect of chilling on photosynthesis and antioxidant enzymes in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. *Trees* 23, 863-874.
- Martinez-Ferri, E., Manrique, E., Valladares, F., and Balaguer, L., 2004.** Winter photoinhibition in the field involves different processes in four co-occurring Mediterranean tree species. *Tree Physiology* 24, 981-990.
- Martinez-Pallé, E., and Arone, G., 2000.** Reproductive cycle of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) in southern Italy. *Plant biosyst.* 134, 365-371.
- Maxwell, K., and Johnson, G.N., 2000.** Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51, 659-668.
- Mayer, A.M., 2004.** Resistance to herbivores and fungal pathogens: Variations on a common theme? A review comparing the effect of secondary metabolites, induced and constitutive, on herbivores and fungal pathogens. *Israel Journal of Plant Sciences* 52, 279-292.
- McAinsh, M.R., and Pittman, J.K., 2009.** Shaping the calcium signature. *New Phytol.* 181, 275-294.
- Mecherara-Idjeri, S., Hassani, A., Castola, V., and Casanova, J., 2008.** Composition and Chemical Variability of the Essential oil from *Pistacia lentiscus* L. Growing Wild in Algeria Part: Leaf Oil. *J. Essent. Oil Res.* 20, 32-38.

- Meddour, R., 2010.** Bioclimatologie, phytogéographie et phytosociologie en Algérie. Exemple des groupements forestiers et préforestiers de la Kabylie Djurdjuréenne. Doctorat d'Etat en Sciences, U.M.M.T.O. 397 P.
- Medrano, H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulias, J., and Flexas, J., 2002.** Regulation of photosynthesis of C_3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany* 89, 895-905.
- Meier, S., Tzfadia, O., Vallabhaneni, R., Gehring, C., and Wurtzel, E.T., 2011.** A transcriptional analysis of carotenoid, chlorophyll and plastidial isoprenoid biosynthesis genes during development and osmotic stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Systems Biology* 5:77.
- Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A., and Cambraia, J., 2003.** Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 49, 69-76.
- De Mendiburu, F., 2010.** Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research, R package version 1.0-9. Available on <http://CRAN.R-project.org/package=agricolae>, accessed on 24 February 2010.
- Merchant, A., Callister, A., Arndt, S., Tausz, M., and Adams, M., 2007.** Contrasting physiological responses of six *Eucalyptus* species to water deficit. *Annals of Botany* 100, 1507-1515.
- Mevy, J.P., Bessière, J.M., Péliissier, Y., Masotti, V., Ruzzier, M., Rabier, J., and Viano, J., 2004.** Composition of the volatile constituents of the aerial parts of an endemic plant of Ivory Coast, *Monanthotaxis capea* (E. G. & A. Camus) Verdc. *Flavour Fragrance J.* 19, 526-528.
- Milla, R., Castro-Diez, P., Maestro-Martinez, M. and Montserrat-Marti, G., 2006a.** Costs of reproduction as related to the timing of phenological phases in the dioecious shrub *Pistacia lentiscus* L. *Plant Biol.* 8, 103-111.
- Milla, R., Palacio-Blasco, S., Maestro-Martinez, M., and Montserrat-Marti, G., 2006b.** Phosphorus accretion in old leaves of a Mediterranean shrub growing at a phosphorus-rich site. *Plant and Soil* 280, 369-372.
- Mirzaie-Nodoushan, H., and Arefi, H.M., 2001.** Variability in seed blankness in *Pistacia atlantica* Desf. in a natural habitat. *PGR Newsletter. FAO-Biodiversity. Bull. Res. Phytogén.* 127, 46-48.
- Mittler, R., 2002.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405-410.
- Miyashita, K., Tanakamaru, S., Maitani, T., and Kimura, K., 2005.** Recovery responses of photosynthesis, transpiration and stomatal conductance in kidney bean following drought stress. *Environ. Exp. Bot.* 53, 205-214.

- Monjauze, A., 1967.** Note sur la régénération du Bétoum par semis naturels dans la place d'essais de Kef Lefaa. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. N., Alger 58, 59-65.
- Monjauze, A., 1968.** Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* Desf. en Algérie. Bull. Soc. Nat. Afrique du Nord.
- Monjauze, A., 1980.** Connaissance du «betoum» *Pistacia atlantica* Desf. Biologie et forêt. Rev. For. Fran. 4, 357-363.
- Montserrat-Martí, G., and Pérez-Rontomé, C., 2002.** Fruit growth dynamics and their effects on the phenological pattern of native *Pistacia* populations in NE Spain. Flora 197, 161-174.
- Morin-Savy, S., 2005.** Biosynthèse de caroténoïdes aromatiques hydroxylés par des bactéries non photosynthétiques : Des carotènes aux xanthophylles. Thèse de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale, 172p
- M'rah, S., Ouerghi, Z., Berthomieu, C., Havaux, M., Jungas, C., Hajji, M., Grignon, C., and Lachaâl, M., 2006.** Effects of NaCl on the growth, ion accumulation and photosynthetic parameters of *Thellungiella halophila*. Journal of Plant Physiology 163, 1022-1031.
- Muir, R.M., and Hansch, C., 1961.** Azulene Derivatives as Plant Growth Regulators. Nature 190, 741-742.
- Mumm, R., Tiemann, T., Schulz, S., and Hilker, M., 2004.,** Analysis of volatiles from black pine (*Pinus nigra*): significance of wounding and egg deposition by a herbivorous sawfly: Phytochemistry 65, 3221-3230.
- Munné-Bosch, S., and Alegre, L., 2000.** Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. Planta 210, 925-931.
- Munné-Bosch, S., and Peñuelas, J., 2003.** Photo- and antioxidative protection during summer leaf senescence in *Pistacia lentiscus* L. grown under Mediterranean field conditions. Ann. Bot. 92, 385-391.
- Munné-Bosch, S., 2005.** The role of alpha-tocopherol in plant stress tolerance. Journal of Plant Physiology 162, 743-748.
- Munns, R., 2002.** Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment 25, 239-250.
- Munns, R., and James, R.A., 2003.** Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. Plant Soil. 253, 201-218.
- Munns R., and Tester M., 2008.** Mechanisms of salinity tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. 59, 651-681.

- Naghdi Badi, H., Yazdani, D., Mohammad, A.S., and Nazari, F., 2004.** Effects of spacing and harvesting on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. Ind. Crop. Prod. 19, 231-236.
- Nahum, S., Inbar, M., Néeman, G., and Ben-Shlomo, R., 2008.** Phenotypic plasticity and gene diversity in *Pistacia lentiscus* L. along environmental gradients in Israel. Tree Genetics & Genomes 4, 777-785.
- Naumann, J.C., Young, D.R., and Anderson, J.E., 2007.** Linking leaf chlorophyll fluorescence properties to physiological responses for detection of salt and drought stress in coastal plant species. Physiologia Plantarum 131, 422-433.
- Naydenov, K., and Alexandrov, A., 1999.** Geographic variability of some of the monoterpenes (alpha-pinene, camphene and beta-pinene) in autochthonous population of Scots pine (*Pinus sylvestris*) in Rila-Rhodopes massif. Biotechnol Biotec Eq 13, 14-18.
- Naydenov, K.D., Tremblay, F.M., Fenton, N.J., and Alexandrov, A., 2006.** Structure of *Pinus nigra* Arn. populations in Bulgaria revealed by chloroplast microsatellites and terpenes analysis: Provenance tests. Biochem. Syst. Ecol. 34, 562-574.
- Nègre, R., 1962.** Petite flore des régions arides du Maroc occidental. Tome 2; Ed. C.N.R.S. 566p.
- Nevo, E., Bolshakova, M.A., Martyn, G.I., Musatenko, L.I., Sytnik, K., Pavliček, T., and Beharav, A., 2000.** Drought and light anatomical adaptative leaf strategies in three woody species caused by microclimatic selection at "Evolution Canyon". Israel. Isr. J. Plant Sci. 48, 33-46.
- Newman, J.D., and Chappell, J., 1999.** Isoprenoid biosynthesis in plants: carbon partitioning within the cytoplasmic pathway. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 34, 95-106.
- Nicorta, A.B., Chazdon, R.L., and Montgomery, R.A., 2003.** Sexes show contrasting patterns of leaf and crown carbon gain in a dioecious rainforest shrub. American Journal of Botany 90, 347-355.
- Niinemets, U., Reichstein, M., Staudt, M., Seufert, G., and Tenhunen, J.D., 2002.** Stomatal constraints may affect emission of oxygenated monoterpenoids from the foliage of *Pinus pinea*. Plant Physiology 130, 1371-1385.
- Nogues, S., and Baker, N.R., 2000.** Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. Journal of Experimental Botany 51, 1309-1317.
- Núñez-Regueira, L., Rodríguez-Anon, J., Proupin, J., and Diz, A.V., 2002.** Calorimetry as a tool to design campaigns to prevent and fight forest fires originating from shrub species. Thermochemica Acta. 394, 279-289.

- Ogaya, R. and Peñuelas, J., 2003.** Comparative field study of *Quercus ilex* and *Phillyrea latifolia*: photosynthetic response to experimental drought conditions. *Environmental and Experimental Botany* 50, 137-148.
- Oku, H., Baba, S., Koga, H., Takara, K., and Iwasaki, H., 2003.** Lipid composition of mangrove and its relevance to salt tolerance. *Journal of Plant Research* 116, 37-45.
- Oliveira, C., and Peñuelas, J., 2000.** Comparative photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and a semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. *Acta Oecologica* 21, 97-107.
- Omidbaigi, R., Sefidkon, F., and Kazemi, F., 2004.** Influence of drying methods on the essential oil content and composition of Roman chamomile. *Flavour Fragr. J.* 19, 196-198.
- Oppenheim, S. J., and Gould, F., 2002.** Is attraction fatal? The effects of herbivore-induced plant volatiles on herbivore parasitism. *Ecology* 83, 3416-3425.
- Ormeño, E., 2006.** Stratégies d'émission de Composés Organiques Volatils (COV) par quatre espèces végétales méditerranéennes : Effet de plusieurs facteurs écologiques sur l'émission et le stockage de terpènes. Thèse de Doctorat, Univ. Provence (Aix Marseille 1), 286 p.
- Ormeño, E., Mevy, J.P., Vila, B., Bousquet-Melou, A., Greff, S., Bonin, G., and Fernandez, C., 2007a.** Water deficit stress induces different monoterpene and sesquiterpene emission changes in Mediterranean species. Relationship between terpene emissions and plant water potential. *Chemosphere* 67, 276-284.
- Ormeño, E., Fernandez, C., and Mevy, J.P., 2007b.** Plant coexistence alters terpene emission and content of Mediterranean species. *Phytochemistry* 68, 840-852.
- Ormeño, E., Baldy, V., Ballini, C., and Fernandez, C., 2008.** Production and diversity of volatile terpenes from plants on calcareous and siliceous soils: Effect of soil nutrients. *J. Chem. Ecol.* 34, 1219-1229.
- Osmond, C.B., 1994.** What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In *photoinhibition of photosynthesis : from Molecular Mechanisms to the field* (eds N.R.Baker J.R. Bowyer), pp 1-24, Bios Scientific Publishers, Oxford.
- Osório, M.L., Osório, J., Vieira, A.C., Gonçalves, S., and Romano, A., 2011.** Influence of enhanced temperature on photosynthesis, photooxidative damage, and antioxidant strategies in *Ceratonia siliqua* L. seedlings subjected to water deficit and rewatering. *Photosynthetica* 49, 3-12.
- Owens, M.K., Lin, C.D., Taylor, C.A., and Whisenant, S.G., 1998.** Seasonal patterns of plant flammability and monoterpenoid content in *Juniperus ashei*. *Journal of Chemical Ecology* 24, 2115-2129.

- Özeker, E., Isfendiyaroglu, M., and Misirli, A., 2006.** Comparison of different *Pistacia* spp. in terms of pollination biology in the Yunt Mountains of Manisa Province in Turkey. *Pak. J. Biol. Sci.* *9*, 371-376.
- Ozenda, P., 1977.** Flore du Sahara. Ed. C.N.R.S., 622 p.
- Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M., and Turkan, I., 2009.** Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. *Environ. Exp. Bot.* *66*, 487-492.
- Ozturk, M., Dogan, Y., Sakcali, M.S., Doulis, A., and Karam, F., 2010.** Ecophysiological responses of some maquis (*Ceratonia siliqua* L., *Olea oleaster* Hoffm. & Link, *Pistacia lentiscus* and *Quercus coccifera* L.) plant species to drought in the east Mediterranean ecosystem. *J. Environ. Biol.* *31*, 233-245.
- Pandey, D.M., Yu, K.W., Wu, R.Z., Hahn, E.J., and Paek, K.Y., 2006.** Effects of different irradiances on the photosynthetic process during *ex-vitro* acclimation of *Anoectochilus* plantlets. *Photosynthetica* *44*, 419-424.
- Parida, A.K., and Das, A.B., 2005.** Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol Environ Safe* *60*, 324-349.
- de Pascale, S., Maggio, A., Fogliano, V., Ambrosino, P., and Ritieni, A., 2001.** Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato. *J. Hortic. Sci. Biotechnol* *76*, 447-453.
- Pegoraro, E., Rey, A., Greenberg, J., Harley, P., Grace, J., Malhi, Y., and Guenther, A., 2004.** Effect of drought on isoprene emission rates from leaves of *Quercus virginiana* Mill. *Atm. Environ.* *38*, 6149-6156.
- Peñuelas, J., and Llusà, J., 2002.** Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*. *New Phytol.* *155*, 227-237.
- Peñuelas, J., and Llusà, J., 2003.** BVOCs: plant defense against climate warming? *Trends Plant Sci.* *3*, 105-109. doi:10.1016/S1360-1385.
- Peñuelas, J., and Llusà, J., 2004.** Plant VOC emissions: making use of the unavoidable. *8*, 402-404. doi:10.1016/j.tree.2004.06.002.
- Peñuelas, J., Llusà, J., Asensio, D., and Munne-Bosch, S., 2005.** Linking isoprene with plant thermotolerance, antioxidants and monoterpene emissions. *Plant, Cell Environ.* *28*, 278-286.
- Peñuelas, J., and Munne-Bosch, S., 2005.** Isoprenoids: an evolutionary pool for photoprotection: *Trends in Plant Science* *10*, 166-169.
- Pichersky, E., and Gang, D.R., 2000.** Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in Plant Science* *5*, 439-445.

- Plaza, B.M., Jimenez, S., Segura, M.L., Contreras, J.I., and Lao, M.T., 2009.** Physiological Stress caused by Salinity in *Cordyline fruticosa* and Its Indicators. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 40, 473-484.
- Popova, O.V., and Golldack, D., 2007.** In the halotolerant *Lobularia maritime* (Brassicaceae) salt adaptation correlates with activation of the vacuolar H⁺-ATPase and the vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter. *Journal of Plant Physiology* 164, 1278-1288.
- Porcar-Castell, A., Juurola, E., Ensminger, I., Berninger, F., Hari, P., and Nikinmaa, E., 2008.** Seasonal acclimation of photosystem II in *Pinus sylvestris*. II. Using the rate constants of sustained thermal energy dissipation and photochemistry to study the effect of light environment. *Tree Physiol.* 28, 1483-1491.
- Quézel, P., et Médail, F., 2003.** *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*, Elsevier Edition. 571 pp.
- Ranjbarfordoei, A., Samson, R., Van Damme, P., and Lemeur, R., 2000.** Effects of drought stress induced by polyethylene glycol on pigment content and photosynthetic gas exchange of *Pistacia khinjuk* and *P. mutica*. *Photosynthetica* 38, 443-447.
- Ranjbarfordoei, A., Samson, R., Lemeur, R., and Van Damme, P., 2002.** Effects of osmotic drought stress induced by a combination of NaCl and polyethylene glycol on leaf water status, photosynthetic gas exchange, and water use efficiency of *Pistacia khinjuk* and *P. mutica*. *Photosynthetica* 40, 165-169.
- Ranjbarfordoei, A., Samson, R., and Van Damme, P., 2006.** Chlorophyll fluorescence performance of sweet almond [*Prunus dulcis* (Miller) D. Webb] in response to salinity stress induced by NaCl. *Photosynthetica* 44, 513-522.
- Rascher, U., Liebig, M., and Luttge, U., 2000.** Evaluation of instant light-response curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. *Plant Cell and Environment* 23, 1397-1405.
- R Development Core Team 2009.** *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Redondo-Gómez, S., Mateos-Naranjo, E., Davy, A.J., Fernández-Muñoz, F., Castellanos, E.M., Luque, T., and Figueroa, M.E., 2007.** Growth and Photosynthetic Responses to Salinity of the Salt-marsh Shrub *Atriplex portulacoides*. *Annals of Botany* 100, 555-563.
- Redondo-Gómez, S., Mateos-Naranjo, E., Vecino-Bueno, I., and Feldman, S.R., 2011.** Accumulation and tolerance characteristics of chromium in a cordgrass Cr-hyperaccumulator, *Spartina argentinensis*. *Journal of Hazardous Materials* 185, 862-869.
- Renaut, J., Hoffmann, L., and Hausman, J.F., 2005.** Biochemical and physiological mechanisms related to cold acclimation and enhanced freezing tolerance in poplar plantlets. *Physiologia Plantarum* 125, 82-94.

- Ringer, K.L., Davis, E.M., and Croteau, R., 2005.** Monoterpene metabolism. Cloning, expression, and characterization of (-)-isopiperitenol/(-)-carveol dehydrogenase of peppermint and spearmint. *Plant Physiol.* 137, 863-872.
- Robakowski, P., and Wyka, T., 2009.** Winter photoinhibition in needles of *Taxus baccata* seedlings acclimated to different light levels. *Photosynthetica* 47, 527-535.
- Rose, R., and Haase, D., 2002.** Chlorophyll fluorescence and variations in tissue cold hardiness in response to freezing stress in Douglas-fir seedlings. *New Forests* 23, 81-96.
- Rouhi, V., Samson, R., Lemeur, R., and Van Damme, P., 2007.** Photosynthetic gas exchange characteristics in three different almond species during drought stress and subsequent recovery. *Environmental and Experimental Botany* 59, 117-129.
- Rowland, S.J., Allard, W.G., Belt, S.T., Massé, G., Robert, J.M., Blackburn, S., Frampton, D., Revill, A.T., and Volkman J.K., 2001.** Factors influencing the distributions of polyunsaturated terpenoids in the diatom, *Rhizosolenia setigera*. *Phytochemistry* 58, 717-728.
- Sagardoy, R., Vázquez, S., Florez-Sarasa, I.D., Albacete, A., Ribas-Carbó, M., Flexas, J., Abadía, J., and Morales, F., 2010.** Stomatal and mesophyll conductances to CO₂ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc. *New Phytologist* 187, 145-158.
- Salmaki, Y., Zarre, S., Jamzad, Z., and Brauchler, C., 2009.** Trichome micromorphology of Iranian *Stachys* (Lamiaceae) with emphasis on its systematic implication. *Flora* 204, 371-381.
- Sánchez-Vilas, J., and Retuerto, R., 2011.** Reproduction reduces photosynthetic capacity in females of the subdioecious *Honckenya peploides*. *Acta Oecologica* 37, 155-163.
- Scarascia-Mugnozza, G., Oswald, H., Piussi, P., and Radoglou, K., 2000.** Forests of the Mediterranean region: gaps in knowledge and research needs: *Forest Ecology and Management*, 132, 97-109.
- Sefidkon, F., Abbasi, K., and Khaniki, G.B., 2006.** Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chem.* 99, 19-23.
- Shaheen, N., Ajab, M., Yasmin, G., and Hayat, M.Q., 2009.** Diversity of Foliar Trichomes and Their Systematic Relevance in the Genus *Hibiscus* (Malvaceae). *Int. J. Agr. Biol.* 11, 279-284.
- Sharkey, T.D.H.E., 1991,** Stomatal control of trace gas emissions. Trace gas emission by plants. *Physiological ecology. A series of monographs, texts, and treatises.* San Diego, CA, Academic Press, Inc, 335-339.

- Sharkey, T.D., Chen, X., and Yeh, S., 2001.** Isoprene increases thermotolerance of fosmidomycin-fed leaves, *Plant Physiol.* 125, 2001-2006.
- Sharkey, T.D., and Yeh, S., 2001.** Isoprene emission from plants: Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 52, 407-436.
- Schmid, C., Steinbrecher, R., and Ziegler, H., 1992.** Partition-coefficients of plant cuticles for monoterpenes. *Trees-Struct Func.* 6, 32-36.
- Seigue, A., 1985.** La forêt circum méditerranéenne et ses problèmes. Techniques agricoles et productions méditerranéennes. G.P. Maisonneuve et Larousse. 502 p.
- Singh, H.P., Batish, D.R., Kaur, S., Arora, K., and Kohli, R.K., 2006.** alpha-Pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. *Ann. Bot.* 98, 1261-1269.
- Singsaas, E.L., and Sharkey, T.D., 1998.** The regulation of isoprene emission responses to rapid leaf temperature fluctuations, *Plant, Cell Environ.* 21, 1181-1188.
- Singsaas, E.L., 2000.** Terpenes and the thermotolerance of photosynthesis, *New Phytologist*, 146, 1-4.
- Siti Aishah, H., Saberi, A.R., Halim, R.A., and Zaharah, A.R., 2011.** Photosynthetic responses of forage sorghums to salinity and irrigation frequency. *Journal of Food Agriculture & Environment* 9, 566-569.
- Siti Zaharah, S., and Razi, I.M., 2009.** Growth, Stomata aperture, biochemical changes and branch anatomy in mango (*Mangifera indica*) cv. Chokanan in response to root restriction and water stress. *Scientia Horticulturae* 123, 58-67.
- Smelcerovic, A., Spiteller, M., Ligon, A.P., Smelcerovic, Z., and Raabe, N., 2007.** Essential oil composition of *Hypericum* L. species from Southeastern Serbia and their chemotaxonomy. *Biochem. Syst. Ecol.* 35, 99-113.
- Spitaler, R., Schlorhauser, P.D., Ellmerer, E.P., Merfort, I., Bortenschlager, S., Stuppner, H., and Zidorn, C., 2006.** Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Arnica montana* cv. ARBO. *Phytochemistry* 67, 409-417.
- Spitaler, R., Winkler, A., Lins, I., Yanar, S., Stuppner, H., and Zidorn, C., 2008.** Altitudinal Variation of Phenolic Contents in Flowering Heads of *Arnica montana* cv. ARBO: a 3-Year Comparison. *J Chem Ecol.* 34, 369-375.
- Stamp, N., 2004.** Can the growth-differentiation balance hypothesis be tested rigorously?. *Oikos* 107, 439-448.
- Staudt, M., and Seufert, G., 1995.** Light-dependent emission of monoterpenes by holm oak (*Quercus ilex* L.). *Naturwissenschaften* 82, 89-92.

- Staudt, M., Bertin, N., Frenzel, B., and Seufert, G., 2000.** Seasonal variation in amount and composition of monoterpenes emitted by young *Pinus pinea* trees - Implications for emission modeling. *J. Atm. Chem.* *35*, 77-99.
- Staudt, M., Céline, M., Joggre, R., Rambal, S., Bonin, A., Landais, D., and Lumaret, R., 2004.** Isoprenoid emissions of *Quercus* spp. (*Q. suber* and *Q. ilex*) in mixed stands contrasting in interespecific genetic introgression: *New Phytologist* *163*, 573-584.
- Stehlik, I., Friedman, J., and Barrett, S.C.H., 2008.** Environmental influence on primary sex ratio in a dioecious plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.* *105*, 10847-10852.
- Sucre, B., and Suárez, N., 2011.** Effect of salinity and PEG-induced water stress on water status, gas exchange, solute accumulation, and leaf growth in *Ipomoea pes-caprae*. *Environmental and Experimental Botany* *70*, 192-203.
- Sudha, G., and Ravishankar, G.A., 2002.** Involvement and interaction of various signaling compounds on the plant metabolic events during defense response, resistance to stress factors, formation of secondary metabolites and their molecular aspects. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* *71*, 181-212.
- Suresh, K., Nagamani, C., Ramachandrudu, K., and Mathur, R.K., 2010.** Gas-exchange characteristics, leaf water potential and chlorophyll *a* fluorescence in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings under water stress and recovery. *Photosynthetica* *48*, 430-436.
- Syros, T., Kofidis, G., Economou, A.S., and Bosabalidis, A.M., 2006.** Leaf structural dynamics associated with adaptation of two *Ebenus cretica* ecotypes. *Biol. Plant.* *50*, 245-250.
- Tattini, M., Lombardini, L., and Gucci, R., 1997.** The effect of NaCl stress and relief on gas exchange properties of two olive cultivars differing in tolerance to salinity. *Plant and Soil* *197*, 87-93.
- Tattini, M., Remorini, D., Pinelli, P., Agati, G., Saracini, E., Traversi, M.L., and Massai, R., 2006.** Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. *New Phytologist* *170*, 779-794.
- Tattini, M., and Traversi, M.L., 2008.** Responses to changes in Ca²⁺ supply in two mediterranean evergreens, *Phillyrea latifolia* and *Pistacia lentiscus*, during salinity stress and subsequent relief. *Annals of Botany* *102*, 609-622.
- Tavakkoli, E., Rengasamy, P., and McDonald, G.K., 2010.** High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. *Journal of Experimental Botany* *61*, 4449-4459.
- Tavakkoli, E., Fatehi, F., Coventry, S., Rengasamy, P., and McDonald, G.K., 2011.** Additive effects of Na⁺ and Cl⁻ ions on barley growth under salinity stress. *Journal of Experimental Botany* *62*, 2189-2203.

- Teakle, N.L., and Tyerman, S.D., 2010.** Mechanisms of Cl⁻ transport contributing to salt tolerance. *Plant, Cell and Environment* 33, 566-589.
- Terashima, I., and Saeki, T., 1983.** Light environment within a leaf. I. Optical properties of paradermal sections of *Camellia* leaves with special reference to differences in the optical properties of palisade and spongy tissues. *Plant and cell Physiology* 24, 1493-1501.
- Tetreault, N., Muthyala, R.S., Liu, R.S.H., and Steer, R.P., 1999.** Control of the photophysical properties of polyatomic molecules by substitution and solvation: The second excited singlet state of azulene. *J. Phys. Chem.* 103, 2524-2531.
- Theis, N., and Lerdau, M., 2003.** The evolution of function in plant secondary metabolites. *Int. J. Plant Sci* 164, S93-S102.
- Thomas, D.S., and Eamus, D., 1999.** The influence of predawn leaf water potential on stomatal responses to atmospheric water content at constant Ci and on stem hydraulic conductance and foliar ABA concentrations. *J. Exp. Bot.* 50, 243-251.
- Thoss, J., and Byers, J.A., 2006.** Monoterpene chemodiversity of ponderosa pine in relation to herbivory and bark beetle colonization. *Chemoecology* 16, 51-58.
- Tiwari, M., and Kakkar, P., 2009.** Plant derived antioxidants - Geraniol and camphene protect rat alveolar macrophages against t-BHP induced oxidative stress. *Toxicol. In Vitro* 23, 295-301.
- Tkachev, A.V., Korolyuk, E.A., and Letchamo, W., 2006.** Chemical screening of volatile oil- bearing flora of Siberia IX. Variations in chemical composition of the essential oil of *Heteropappus altaicus* Willd. (Novopokr.) growing wild at different altitudes of Altai Region, Russia. *J. Essent. Oil Res.* 18, 149-151.
- Tounekti, T., Vadel, A.M., Oñate, M., Khemira, H., and Munné-Bosch, S., 2011.** Salt-induced oxidative stress in rosemary plants: Damage or protection? *Environmental and Experimental Botany* 71, 298-305
- Towler, M.J., and Weathers, P.J., 2007.** Evidence of artemisinin production from IPP stemming from both the mevalonate and the nonmevalonate pathways. *Plant Cell Rep.* 26, 2129-2136.
- Townsend, B.J., Poole, A., Blake, C.J., and Llewellyn, D.J., 2005.** Antisense suppression of a (+)-delta-cadinene synthase gene in cotton prevents the induction of this defense response gene during bacterial blight infection but not its constitutive expression. *Plant Physiol.* 138, 516-528.
- Trapp, S., and Croteau, R., 2001.** Defensive resin biosynthesis in Conifers. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 52, 689-724.

- Trubat, R., Cortina, J., and Vilagrosa, A., 2006.** Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* L. *Trees* 20, 334-339.
- Turtola, S., Manninen, A.M., Rikala, R., and Kainulainen, P., 2003.** Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. *J. Chem. Ecol.* 29, 1981-1995.
- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., and Webb, D.A., 1981.** *Flora Europaea. Rosaceae to Umbelliferae.* Cambridge University Press. 2, 236-237.
- Tzakou, O., Bazos, I., and Yannitsaros, A., 2007.** Volatile metabolites of *Pistacia atlantica* Desf. from Greece. *Flavour Fragrance J.* 22, 358-362.
- Valderrama, R., Corpas, F.J., Carreras, A., Fernández-Ocaña, A., Chaki, M., Luque, F., Gómez-Rodríguez, M.V., Colmenero-Vareaa, P., del Río, L.A., and Barroso, J.B., 2007.** Nitrosative stress in plants. *FEBS Letters* 581, 453-461.
- Valentini, R., Epron, D., De Angelis, P., Matteucci, G., and Dreyer, E., 1995.** *In situ* estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Quercus cerris* L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant, Cell and Environment* 18, 631-640.
- Valladares, F., Gianoli, E., and Gómez, J.M., 2007.** Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytol* 176, 749-763.
- Varone, L., and Gratani, L., 2007.** Physiological response of eight Mediterranean maquis species to low air temperatures during winter. *Photosynthetica* 45, 385-391.
- Velikova, V., Edreva, A., Tsonev, T., Gesheva, E., Dagnon, S., Loreto, F., Gurel, A., and Jones, H., 2007.** Secondary metabolites: Tools for stress protection in plants: Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology, v. 146, p. 27.
- Velitchkova, M., and Fedina, I., 1998.** Response of photosynthesis of *Pisum sativum* to salt stress as affected by methyl jasmonate. *Photosynthetica* 35, 89-97.
- Verdú, M., and Garcia-Fayos, P., 1998.** Ecological causes, function, and evolution of abortion and parthenocarp in *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae). *Can. J. Bot.* 76, 134-141.
- Verdú, M., and Garcia-Fayos, P., 2002.** Reproductive ecology of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae): an evolutionary anachronism in the Mediterranean shrubland. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 75, 57-65.
- Veres, S., Tóth, V.R., Láposi, R., Oláh, V., Lakatos, G., and Mészáros, I., 2006.** Carotenoid composition and photochemical activity of four sandy grassland species *Photosynthetica* 44, 255-261.

- Vickers, C.E., Possell, M., Cojocariu, C.I., Velikova, V.B., Laothawornkitkul, J., Ryan, A., Mullineaux, P.M., and Hewitt, C.N., 2009.** Isoprene synthesis protects transgenic tobacco plants from oxidative stress. *Plant Cell and Environment* 32, 520-531.
- Vidrich, V., Fusi, P., Graziano, A., Silvestrini, E., Michelozzi, M., and Marco, F., 2004.** Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentisus* L. *Journal of Essential Oil Research* 16, 223-226.
- Vilagrosa, A., Bellot, J., Vallejo, V.R., and Gil-Pelegrin, E., 2003.** Cavitation, stomatal conductance, and leaf dieback in seedlings of two co-occurring Mediterranean shrubs during an intense drought. *J. Exp. Bot.* 54, 2015-2024.
- Villadsen, D., Rung, J.H., and Nielsen, T.H., 2005.** Osmotic stress changes carbohydrate partitioning and fructose-2,6-bisphosphate metabolism in barley leaves. *Funct. Plant Biol.* 32, 1033-1043.
- Vokou, D., Kokkini, S., and Bessiere, J.M., 1993.** Geographic-Variation of Greek Oregano (*Origanum-vulgare* ssp *Hirtum*) Essential Oils. *Biochem. Syst. Ecol.* 21, 287-295.
- Volkova, L., Bennett, L.T., and Tausz, M., 2011.** Diurnal and seasonal variations in photosynthetic and morphological traits of the tree ferns *Dicksonia antarctica* (Dicksoniaceae) and *Cyathea australis* (Cyatheaceae) in wet sclerophyll forests of Australia. *Environmental and Experimental Botany* 70, 11-19.
- Voronin, P.Y., Ivanova, L.A., Ronzhina, D.A., Ivanov, L.A., Anenkhonov, O.A., Black, C.C., Gunin, P.D., and P'yankov, V.I., 2003.** Structural and Functional Changes in the Leaves of Plants from Steppe Communities as Affected by Aridization of the Eurasian Climate. *Russian Journal of Plant Physiology* 50, 604-611.
- Vranova, E., Inze, D., and Van Breusegem, F., 2002.** Signal transduction during oxidative stress. *J. Exp. Bot.* 53, 27-36.
- Wahid, A., and Ghazanfar, A., 2006.** Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. *J. Plant. Physiol.* 163, 723-730.
- Wahid, S., Gelani, M., Ashraf, M.R., and Foolad, M.R., 2007.** Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany* 61, 199-223.
- Wahid, A., 2007.** Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. *J. Plant Res.* 120, 219-228.
- Wang, R., Chen, S., Deng, L., Fritz, E., Hüttermann, A., and Polle, A., 2007.** Leaf photosynthesis, fluorescence response to salinity and the relevance to chloroplast salt compartmentation and anti-oxidative stress in two poplars. *Trees* 21, 581-591.

- Warren, C.R., Livingston, N.J., and Turpin, D.H., 2004.** Water stress decreases the transfer conductance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) seedlings. *Tree Physiology* 24, 971-979
- Wassner, D.E., and Ravetta, D.A., 2005.** Temperature effects on leaf properties, resin content, and composition in *Grindelia chiloensis* (Asteraceae). *Ind. Crop. Prod.* 21, 155-163.
- Wellburn, A.R., 1994.** The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Plant Physiol.* 144, 307-313.
- Wendehenne, D., 2005.** Le monoxyde d'azote, un acteur de la résistance des plantes aux microorganismes pathogènes. *Comptes rendus de l'académie des sciences, série III-Sciences de la vie - Life sciences.* 91, 17-26.
- Weng, J.H., 1993.** Photosynthesis of different ecotypes of *Miscanthus* ssp. as affected by water stress. *Photosynthetica* 29, 43-48.
- White, P.J., and Broadley, M.R., 2003.** Calcium in plants: a review. *Ann. Bot.* 92, 487-511.
- Willits, D.H., and Peet, M.M., 2001.** Measurements of chlorophyll fluorescence as a heat stress indicator in tomato: laboratory and greenhouse comparisons. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126, 188-194.
- Xu, H., Biswas, D.K., Li, W.D., Chen, S.B., Zhang, L., Jiang, G.M., and Li, Y.G., 2007.** Photosynthesis and yield responses of ozone-polluted winter wheat to drought. *Photosynthetica* 45, 582-588.
- Xu, X., Peng, G.Q., Wu, C.C., Korpelainen, H., and Li, C.Y., 2008a.** Drought inhibits photosynthetic capacity more in females than in males of *Populus cathayana*. *Tree Physiology* 28, 1751-1759.
- Xu, X., Yang, F., Xiao, X., Zhang, S., Korpelainen, H., Li, C., 2008b:** Sex-specific responses of *Populus cathayana* to drought and elevated temperatures. *Plant, Cell and Environment* 31, 850-860.
- Xu, Z.Z., Zhou, G.S., and Shimizu, H., 2009.** Effects of Soil Drought with Nocturnal Warming on Leaf Stomatal Traits and Mesophyll Cell Ultrastructure of a Perennial Grass. *Crop Sci.* 49, 1843-1851.
- XueJun, D., and XinShi, Z., 2000.** Special stomatal distribution in *Sabina vulgaris* in relation to its survival in a desert environment. *Trees* 14, 369-375.
- Yaltirik, F., 1967.** Anacardiaceae. Contributions to the taxonomy of woody plants in Turkey. *Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh* 28, 11-12.
- Yang, M.S., Tawaha, A.R.M., and Lee, K.D., 2005.** Effects of Ammonium Concentration on the Yield, Mineral Content and Active Terpene Components of *Chrysanthemum coronarium* L. in a Hydroponic System. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 1, 170-175.

- Yani, A., Pauly, G., Faye, M., Salin, F., and Gleizes, M., 1993.** The Effect of a Long-Term Water-Stress on the Metabolism and Emission of Terpenes of the Foliage of *Cupressus sempervirens*. *Plant, Cell Environ.* *16*, 975-981.
- Yao, S., Chen, S., Xu, D., and Lan, H., 2010.** Plant growth and responses of antioxidants of *Chenopodium album* to long-term NaCl and KCl stress. *Plant Growth Regul.* *60*, 115-125.
- Yin, C., pang, X., and Lei, Y., 2009.** *Populus* from high altitude has more efficient protective mechanisms under water stress than from low-altitude habitats: a study in greenhouse for cuttings. *Physiologia Plantarum* *137*, 22-35.
- Yiotis, C., Psaras, G.K., and Manetas, Y., 2008.** Seasonal photosynthetic changes in the green-stemmed Mediterranean shrub *Calicotome villosa*: a comparison with leaves. *Photosynthetica* *46*, 262-267.
- Yokthongwattana, K., Sriariyanun, M., Ekaratcharoenchai, P., and Svasti, J., 2010.** Characterization of fatty acids and proteins associated with the xanthophyll-enriched membrane fraction isolated from the thylakoid membranes of irradiance-stressed *Dunaliella salina*. *J Appl Phycol* *22*, 147-155.
- Yousifi, N., Slama, I., Ghnaya, T., Savoure, A., and Abdelly, C., 2010.** Effects of water deficit stress on growth, water relations and osmolyte accumulation in *Medicago truncatula* and *M. laciniata* populations. *Comptes Rendus Biologies* *333*, 205–213.
- Youssef, T., and Awad, M.A., 2008.** Mechanisms of Enhancing Photosynthetic Gas Exchange in Date Palm Seedlings (*Phoenix dactylifera* L.) under Salinity Stress by a 5-Aminolevulinic Acid-based Fertilizer. *J. Plant Growth Regul.* *27*, 1-9.
- Yu, F.N.A., and Utsumi, R., 2009.** Diversity, regulation, and genetic manipulation of plant mono-and sesquiterpenoid biosynthesis. *Cell. Mol. Life Sci.* *66*, 3043-3052.
- Zahoueh, S., Lepart, J., mauchamps, A., et Rambal, S., 1991.** Structure modulaire et integration physiologique chez une espèce dioïque : *Pistacia terebinthus*. *Naturalia Monspeliensia* n° h.s.: 519-531.
- Zarco-Tejada, P.J., Miller, J.R., Mohammed, G.H., Noland, T.L., and Sampson, P.H., 2002.** Vegetation stress detection through chlorophyll a + b estimation and fluorescence effects on hyperspectral imagery. *J. Environ. Qual.* *31*, 1433-1441.
- Zavala, J.A., and Ravetta, D.A., 2002.** The effect of solar UV-B radiation on terpenes and biomass production in *Grindelia chiloensis* (Asteraceae), a woody perennial of Patagonia, Argentina. *Plant Ecology* *161*, 185–191.
- Zhang, H.X., and Blumwald, E., 2001.** Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nature Biotechnology* *19*, 765-768.
- Zhang, D.Y., Yin, L.K., Pan, B.R., 2003.** A review on the study of salt glands of *Tamarix*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia. Sinica* *23*, 190-194.

- Zhang, X., Wu, N., and Li, C., 2005.** Physiological and growth responses of *Populus davidiana* ecotypes to different soil water contents. *J. Arid Environ.* 60, 567-579.
- Zhang, X., Li, C., and Nan, Z., 2010a.** Effects of cadmium stress on growth and anti-oxidative systems in *Achnatherum inebrians* symbiotic with *Neotyphodium gansuense*. *Journal of Hazardous Materials* 175, 703-709.
- Zhang, S., Chen, F.G., Peng, S.M., Ma, W.J., Korpelainen, H., and Li, C.Y., 2010b.** Comparative physiological, ultrastructural and proteomic analyses reveal sexual differences in the responses of *Populus cathayana* under drought stress. *Proteomics* 10, 2661-2677.
- Zhang, S., Jiang, H., Peng, S., Korpelainen, H., and Li, C., 2011.** Sex-related differences in morphological, physiological, and ultrastructural responses of *Populus cathayana* to chilling. *Journal of Experimental Botany* 62, 675-686.
- Zhou, G.A., Chang, R.Z., and Qiu, L.J., 2010.** Overexpression of soybean ubiquitin-conjugating enzyme gene GmUBC2 confers enhanced drought and salt tolerance through modulating abiotic stress-responsive gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol.* 72, 357-367.
- Zhu, J.K., 2002.** Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53, 247-73.
- Zhu, B., Wang, Q., Roge, E.F., Nan, P., Liu, Z., and Zhong, Y., 2006.** Chemical variation in leaf oils of *Pistacia chinensis* from five locations in China. *Chem Nat Comp* 4, 422-425.
- Zine El Abidine, A., 1987.** Application de l'analyse multidimensionnelle à l'étude taxinomique et phytoécologique du chêne zeen (*Quercus faginea*) et de ses peuplements au Maroc. Thèse Doc. Ing., Fac. St-Jérôme, Univ. Aix Marseille, 120p
- Zohary, M., 1952.** A monographic study of the genus *Pistacia*. *Palestine J. Bot.* 5, 187-228.
- Zohary, M., 1987.** *Flora Palaestina. Platanaceae to Umbelliferae.* 2, 296-300
- Zohary, M., 1996.** The genus *Pistacia* L. In: Taxonomy, distribution, conservation and uses of *Pistacia* genetic resources. Proceedings of the IPGRI Workshop 29-30 June 1995. Edited by S. Padulosi, T. Caruso and E. Barone. Palermo, Italy. 1-11
- Zrira, S., Elamrani, A., and Benjilali, B., 2003.** Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Morocco - a seasonal variation. *Flavour Fragr. J.* 18, 475-480.
- Zunzunegui, M., Díaz Barradas, M.C., Clavijo, A., Alvarez Cansino, L., Ain-Lhout, F. and García Novo, F., 2006.** Ecophysiology, growth timing and reproductive effort of three sexual forms of *Corema album* (Empetraceae). *Plant Ecology* 183, 35-46.

Tableau récapitulatif des données terpéniques observées dans les feuilles des différentes populations algériennes de lentisque et du pistachier de l'Atlas

<i>Pistacia atlantica</i>	Médéa	Laghouat	Béchar
Composés majoritaires (µg g ⁻¹ MS)	<i>spathulenol (23), α-pinene (10), verbenone (7) et le β-pinene (6)</i>	<i>spathulenol (73), α-pinene (25), β-pinene (18) et γ-amorphene (16)</i>	<i>spathulenol (114), α-pinene (49), germacrene D (29) et le camphene (23)</i>
Teneurs moyennes en monoterpènes (µg g ⁻¹ MS)	57	79	136
Pourcentage de monoterpènes	34	29	32
Teneurs moyennes en sesquiterpènes (µg g ⁻¹ MS)	113	180	290
Pourcentage de sesquiterpènes	66	71	68
Marqueurs d'aridité	<i>spathulenol, α-pinene, δ-cadinene et β-copaene</i>		
<i>Pistacia lentiscus</i>	Site littoral	Site à altitude moyenne	Site le plus élevé
Composés majoritaires (%)	<i>δ-cadinene (10.9), cubebol (10.5) et β-bisabolene (7.7)</i>	<i>β-caryophyllene (11.5), δ-cadinene (8.6) et caryophyllene oxide (6.8)</i>	<i>β-caryophyllene (12), δ-cadinene (9.3) et α-pinene (6.3)</i>
Teneurs moyennes en monoterpènes (µg. g ⁻¹ MS)	21.7	37.5	221.5
Pourcentage de monoterpènes	5	6	20
Teneurs moyennes en sesquiterpènes (µg g ⁻¹ MS)	799	956	1181
Pourcentage de sesquiterpènes	95	94	80
Marqueurs d'altitude	<i>α-pinene, camphene et p-cymene</i>		

Abstract - The genus *Pistacia* contains 11 dioecious species. Among them, *P. lentiscus* and *P. atlantica* are the most abundant wild plants found in Algeria in contrasted environments. A better understanding of their adaptation mechanisms would certainly be of a great interest for the success of the reforestation program in Algeria.

Our doctoral training therefore, aims to highlight through morpho-anatomical, ecophysiological and phytochemical approaches, the strategies developed by these two species in extreme habitat conditions; altitude, aridity and salinity.

A first study carried out *in situ* has revealed the variability of three populations of the Algerian Atlas pistachio (Bechar, Laghouat and Médéa) in response to drought. This study showed a high plasticity of the morpho-anatomical and the phytochemical traits. Acclimatation or adaptation to drought could be explained by an increase of terpene contents, probably in connection with the increase thickness of palisade parenchyma and the high density of glandular hairs. To discriminate adaptive traits from those that are not, a study was carried out on seedlings from two of the stations studied. We have shown that seedlings of the most arid station (Bechar) had a net carbon assimilation rate and photosynthesis quantum efficiency greater than those of seedlings of the less arid station (Médéa). The analysis of scanning electron micrographs allowed to say that these differences were due to stomatal limitations, confirming the adaptive nature of these photosynthetic traits.

The second part of this work, carried out *in situ*, revealed a great variability of terpene composition from 75 populations of Algerian mastic tree. Three chemotypes were identified according to the altitude. The highest levels were recorded in populations of high altitude thus confirming the hypothesis of the protection role of terpenes against UV radiations.

In the third part, the plasticity of the mastic tree photosynthetic apparatus was studied during four seasons *in situ*, from three very contrasting sites in France; semi-arid, arid and saline. The results revealed a chronic photoinhibition of the photosynthetic apparatus in winter followed by the lowest chlorophyll content, mainly in the saline sites. This was due to the weak efficiency of PSII antennae in converting light energy. In spring, the value of the maximum quantum efficiency was higher from female trees and this could be explained by an increase of carbon-demand for fruiting in this season. The protecting of the photosynthesis machinery against chronic photoinhibition during summer is justified by a high ratio of carotenoid / chlorophyll. In autumn, the physiological activity restarts with a better resilience recorded in the arid sites. To further understand the physiology of the mastic tree growing near the sea, seedlings from the coastal station (Montredon) were studied in culture. The results obtained in confocal microscopy showed that this species sequesters sodium ions into epidermis and cell walls. The inhibitory effects of NaCl on the quantum yield and net CO₂ assimilation rate during photosynthesis were significantly improved in calcareous soil.

Key-word: *P. lentiscus*, *P. atlantica*, morpho-anatomy, terpenes, fluorescence, gas exchanges, pigments, seasons, aridity, altitude, salinity, adaptation.

Résumé - Le genre *Pistacia* comprend 11 espèces dioïques. Parmi elles, *P. lentiscus* et *P. atlantica* sont les plus abondantes et vivant à l'état sauvage en Algérie dans des milieux très contrastés. Une meilleure connaissance de leur adaptation en milieu naturel serait certainement d'un grand intérêt pour la réussite du programme de reboisement en Algérie.

Notre étude consiste donc à comprendre les stratégies développées par ces deux espèces dans des habitats aux conditions extrêmes, notamment l'altitude, l'aridité et la salinité et ceci, en se basant sur les aspects morpho-anatomiques, phytochimiques et écophysologiques.

Une première étude réalisée *in situ* a permis de mettre en évidence, la variabilité de trois populations algériennes de pistachier de l'Atlas (Béchar, Laghouat et Médéa) en relation avec la sécheresse. Cette étude a montré une grande plasticité des caractères morpho-anatomiques et phytochimiques. L'adaptation ou l'accommodation à l'aridité s'expliquerait par une augmentation des teneurs en terpènes qui serait probablement en relation avec l'accroissement des épaisseurs de parenchyme palissadique et la forte densité de poils glanduleux. Pour discriminer les traits adaptatifs de ceux qui ne le sont pas, une étude a été réalisée sur des plantules originaires de 2 des stations étudiées. Nous avons montré que les plantules de la station la plus aride (Béchar) avaient une activité photosynthétique nette et un rendement quantique supérieurs aux plantules du milieu le moins aride (Médéa). L'analyse des clichés de microscopie électronique a permis de dire que ces différences étaient dues à des limitations stomatiques, confirmant ainsi le caractère adaptatif de ces traits photosynthétiques.

La deuxième partie de ce travail réalisée *in situ* a révélé une grande variabilité de la composition terpénique chez 75 populations de lentisque algériennes. Trois chémotypes ont été identifiés en fonction de l'altitude. Les teneurs les plus élevées ont été enregistrées chez les populations de haute altitude ce qui conforte l'hypothèse du rôle de protection des terpènes contre les UV.

Dans la troisième partie, la plasticité de l'appareil photosynthétique du lentisque a été étudiée durant les 4 saisons de l'année *in situ*, dans trois sites très contrastés en France; semi aride, aride et salin. Les résultats obtenus ont révélé une photoinhibition chronique de l'appareil photosynthétique en hiver accompagnée par des taux les plus faibles en chlorophylle, essentiellement dans les sites salins. Elle serait due à l'inefficacité dans la conversion de l'énergie lumineuse par les antennes de PSII. Au printemps, la valeur de l'efficacité quantique maximale était plus élevée chez les arbres femelles et s'expliquerait par une forte allocation des ressources carbonées destinées pour le développement de fruit durant cette saison. La protection de l'appareil photosynthétique, contre une photoinhibition chronique estivale est justifiée par un taux élevé du ratio caroténoïdes/chlorophylle. En Automne, il y a reprise de l'activité physiologique avec une meilleure résilience enregistrée dans les sites arides. Pour mieux comprendre la physiologie du lentisque en bord de mer, des plantules originaires de la station littorale (Montredon) ont été étudiées en chambre de culture. Les résultats obtenus en microscopie confocale ont montré que cette espèce séquestre le sodium dans les cellules épidermiques ainsi que dans les parois cellulaires. Les effets néfastes de NaCl sur le rendement quantique et l'assimilation nette du CO₂ au cours de la photosynthèse sont nettement améliorés en milieu calcaire.

Mot-clés: *P. lentiscus*, *P. atlantica*, morpho-anatomie, terpènes, fluorescence, échanges gazeux, pigments, saisons, aridité, altitude, salinité, adaptation.