

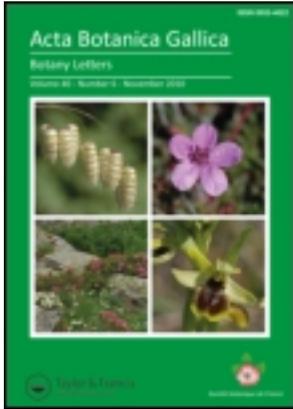
This article was downloaded by: [41.101.234.2]

On: 02 December 2013, At: 11:39

Publisher: Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954

Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Acta Botanica Gallica

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.tandfonline.com/loi/tabg20>

Evaluation de la variabilité de jeunes plants de *Medicago* soumis à un régime de basse température

Nourredine Yahia^a & Fatima Zohra Fyad-Lameche^a

^a Laboratoire d'Amélioration des Plantes, Université d'Oran Es-Senia, Faculté des Sciences, Département de Biologie, B.P. 16, Es-Senia, Oran, Algérie

Published online: 26 Apr 2013.

To cite this article: Nourredine Yahia & Fatima Zohra Fyad-Lameche (2003) Evaluation de la variabilité de jeunes plants de *Medicago* soumis à un régime de basse température, *Acta Botanica Gallica*, 150:1, 3-17, DOI: [10.1080/12538078.2003.10515983](https://doi.org/10.1080/12538078.2003.10515983)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/12538078.2003.10515983>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Taylor & Francis makes every effort to ensure the accuracy of all the information (the "Content") contained in the publications on our platform. However, Taylor & Francis, our agents, and our licensors make no representations or warranties whatsoever as to the accuracy, completeness, or suitability for any purpose of the Content. Any opinions and views expressed in this publication are the opinions and views of the authors, and are not the views of or endorsed by Taylor & Francis. The accuracy of the Content should not be relied upon and should be independently verified with primary sources of information. Taylor and Francis shall not be liable for any losses, actions, claims, proceedings, demands, costs, expenses, damages, and other liabilities whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with, in relation to or arising out of the use of the Content.

This article may be used for research, teaching, and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, redistribution, reselling, loan,

sub-licensing, systematic supply, or distribution in any form to anyone is expressly forbidden. Terms & Conditions of access and use can be found at <http://www.tandfonline.com/page/terms-and-conditions>

Évaluation de la variabilité de jeunes plants de *Medicago* soumis à un régime de basse température

par Nourredine Yahia et Fatima Zohra Fyad-Lameche

Laboratoire d'Amélioration des Plantes, Université d'Oran Es-Senia, Faculté des Sciences, Département de Biologie, B.P. 16, Es-Senia, Oran, Algérie

arrivé le 14 décembre 2001, accepté le 13 mai 2002

Résumé. - Les espèces annuelles du genre *Medicago* présentent un intérêt économique très important. Ces plantes fourragères sont souvent utilisées dans les systèmes de rotation « céréales-luzerne ». En Algérie, l'intégration céréaliculture pâturage temporaire d'espèces annuelles de *Medicago* nécessite la disponibilité d'écotypes adaptés et ce, au dépend des jachères, peu productives en zones céréalières. Les objectifs de cette étude consistent à examiner les rapports entre la variabilité génétique et la tolérance au froid d'écotypes locaux appartenant à des espèces annuelles de *Medicago* vivant dans des étages climatiques différents. Le développement de jeunes plants issus de germination, sous un régime de basse température, diffère d'une espèce à une autre. *M. aculeata* et *M. ciliaris* présentent une tolérance au froid plus importante que celle de *M. polymorpha* et *M. sativa*. À l'intérieur des espèces, les écotypes originaires des sites de haute altitude affichent une tolérance supérieure à ceux originaires des sites de basse altitude. La teneur des protéines est plus prononcée chez les écotypes tolérants que chez les écotypes sensibles.

Mots-clés : *Medicago* - tolérance au froid - jeunes plantes - protéines.

Abstract. - In Algeria 20 years ago, the Ley-Farming system cereal-medics failed to have positive effects, because the poor adaptation of Australian cultivars has limited its expansion, this is especially true for the « hauts plateaux » regions characterized by severe winters. For colder winter zones frost tolerance should be the primary breeding objective. In this fact it is judicious to advocate persistent and rustic pastures species or varieties, for this breeders should have a good screening test to detect performant and frost tolerant populations. The present work was undertaken to study cold tolerance variation in seedling of annual species of *Medicago*, research a chilling test at seedling stage and detecting variation of soluble protein content related to cold stress. The development of seedlings of germination, under a regime of low temperature, differs a species to another one. *M. aculeata* and *M. ciliaris* present a tolerance to the more important cold weather the one of *M. polymorpha* and *M. sativa*. Inside of species, the original ecotypes of high altitude sites display a superior tolerance of cold to those originals of low altitude sites. The content of proteins is pronounced more at ecotypes tolerant than the sensible ecotypes.

Key-words : *Medicago* - cold tolerance - seedling stage - protein.

I. INTRODUCTION

Les espèces annuelles du genre *Medicago* présentent un intérêt économique très important. Ces plantes fourragères sont souvent utilisées dans les systèmes de rotation « céréales-luzerne ». En Algérie, l'intégration céréaliculture-élevage nécessiterait la création de pâturages d'espèces annuelles de *Medicago* comme substitution aux jachères en zones céréalières. L'échec des variétés australiennes de « medics » en zones continentales gélives a orienté les recherches sur l'évaluation des espèces locales de *Medicago*. Il est impératif en effet, pour les zones des hauts plateaux, d'introduire de nouvelles variétés tolérantes au froid.

Les basses températures constituent l'un des principaux facteurs limitant de la productivité et la distribution des plantes (Mohapatra *et al.*, 1989). Les espèces annuelles de *Medicago* n'échappent pas à cette règle et c'est pour cette raison qu'il est indispensable de préconiser des espèces ou variétés fourragères devant présenter une croissance hivernale suffisante pour être valorisées et une vitesse d'implantation rapide (Prosperi *et al.*, 1993). La croissance de jeunes plantes sous un régime de basse température est souvent utilisée comme crible dans la classification et la détermination de populations et de variétés de différentes espèces tolérantes au froid (Hardacre & Eagles, 1980 ; Maheswaran & Subramanian, 1989 ; Bounejmate *et al.*, 1993 ; Nykiforuk & Johnson-Flanagan, 1994). Les marqueurs biochimiques tels que les protéines sont également utilisés pour cribler des plantes résistantes au froid (Guy *et al.*, 1987 ; Guy & Haskell, 1987 ; Mohapatra *et al.*, 1987 ; Kurkela *et al.*, 1988 ; Guy *et al.*, 1988 ; Perras & Sarhan, 1989 ; Mohapatra *et al.*, 1989 ; Ort *et al.*, 1989 ; Guy & Haskell, 1989 ; Guy, 1990 ; Antikainen & Pihakaski, 1993).

Dans le but d'étudier l'effet du froid sur des écotypes d'espèces annuelles de *Medicago* collectées à partir de plusieurs sites géographiques algériens, différant par l'altitude, et de rechercher un éventuel marqueur de sélection pour la tolérance au froid, nous avons retenu deux séries d'expériences. La première, biométrique, consiste à faire croître de jeunes plantes à basse température (4 °C) (lot traité) et à 19 °C (lot témoin), et à mesurer leur croissance ainsi que leur degré de tolérance au froid. La seconde a consisté à analyser les protéinogrammes de jeunes plantes traitées à 4 °C et des témoins maintenus à 19 °C.

Cette étude pourrait permettre d'apprécier la variabilité génétique de la tolérance au froid et de cribler de façon préalable des écotypes performants en vue de leur utilisation dans des programmes d'implantation de « medics » au niveau des hauts plateaux algériens et une éventuelle introduction dans les systèmes de rotations « céréales-luzerne » en remplacement de la jachère.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de quinze écotypes d'espèces annuelles de *Medicago* et d'une variété de Luzerne cultivée (*M. sativa* var. "Orca"). Les écotypes d'espèces annuelles de *Medicago* ont différentes origines géographiques, prospectés par l'IGC (Institut des Grandes Cultures). *Medicago sativa* var. "Orca" a été fourni par la station de Lusignan (France). La liste des écotypes étudiés est indiquée dans le tableau I.

Tableau I.- Matériel végétal utilisé, origine et altitude du site de prospection. (Source : IGC, Institut des Grandes Cultures, Algérie). Ra : rare, Fr : fréquent, Oc : occasionnel, Ab : abondant.

Table I.- Species and ecotypes used, origin and altitud of site of prospection (source: IGC, Institut des Grandes Cultures, Algeria). Ra: rare, Fr: frequent, Oc: occasional, Ab: abundant.

Espèces	Ecotypes	Origine	Altitude du site (mètres)	Présence au site
<i>M. ciliaris</i>	Cil 02	Algérie	810	Ra (*)
	Cil 11	Algérie	80	Oc
	Cil 13-c	Algérie	370	-
	Cil 56	Algérie	565	Fr
	Cil 80	Syrie	-	-
<i>M. polymorpha</i>	Pol 46	Algérie	700	Oc
	Pol 22	Algérie	1120	Fr
	Pol 214	Algérie	1100	-
	Pol 226	Algérie	450	Ra
	Pol Tah	Syrie	-	-
<i>M. aculeata</i>	Acl 212	Algérie	1050	Ab
	Acl 203	Algérie	710	Oc
	Acl 209	Algérie	500	Fr
	Acl 231	Algérie	990	Ra
	Acl 80	Syrie	-	-
<i>M. sativa</i>	var. "Orca"	France	-	-

1. Semis

Quarante graines divisées en deux lots de vingt, pour chaque population, ont été scariées, puis mises à germer à l'obscurité dans des boîtes de Petri de 12 cm de diamètre contenant du terreau arrosé à l'eau distillée, dans une étuve à 19 °C. Au bout de trois jours de germination, dans chacun des lots, les cinq germinations d'aspect sain (ne présentant pas de traces d'infection, ni mauvaise germination) sont retenues. Un des lots est maintenue dans l'étuve tandis que le deuxième lot est transféré dans un réfrigérateur à une température de 4 °C, à l'obscurité. Les deux lots sont arrosés à l'eau distillée tous les deux jours.

2. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est un dispositif bloc, échelonné dans le temps, complètement aléatoire, avec dix répétitions. Dans chaque répétition, chaque population est représentée par cinq individus.

3. Mesures

Cinq jours après le semis, c'est-à-dire après 48 heures de traitement, la longueur totale de la plante, la longueur de la racine et le poids du jeune plant sont évalués dans le cas des deux lots (traités et non traités). Une seconde mesure identique est réalisée après 96 heures de traitement (c'est-à-dire au stade de sept jours). Le pourcentage de réduction à basse température est calculé par rapport au témoin et des comparaisons de moyennes par couple,

entre lots traités et lots non traités (lots témoins), sont effectuées. Les caractères mesurés sont les suivants :

- le poids de la jeune plante (Pds),
- la longueur de la jeune plante (LP) (Fig. 1),
- la longueur de la racine (LR) (Fig. 1).

Le pourcentage de réduction pour les différents caractères mesurés est calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ de réduction} = (\text{valeur du plant témoin} - \text{valeur du plant traité}) / (\text{valeur du plant témoin}) \times 100.$$

B. Analyse des protéines

1. Dosage des protéines

Un dosage des protéines totales a été réalisé dans le but de mettre en évidence des modifications quantitatives de protéines lors du traitement par le froid. Le dosage est effectué suivant la méthode de Lowry *et al.* (1951) avec le réactif de Folin.

2. Préparation des extraits

Les extraits sont préparés à partir de jeunes plantes traitées et non traitées après cinq jours et sept jours de croissance. Cinq individus de chaque population sont broyés dans un mortier dans un tampon d'extraction contenant du Tris-HCl 0.0625 M (pH 6.8), du glycerol à 10%, β -Mercapto-ethanol à 5%, Poly-Vinyl-Pyrolidone (PVP) à 5% (W/V), EDTA 50 mM, KCl 10 mM, $MgCl_2$ 20 mM, et du SDS à 2% (Mohapatra *et al.*, 1987, modifié). Les extraits sont centrifugés à 13 000 tours/mn en deux fois 15 minutes. Le surnageant est conservé dans de l'azote liquide, pour être utilisé ensuite pour le dosage des protéines.

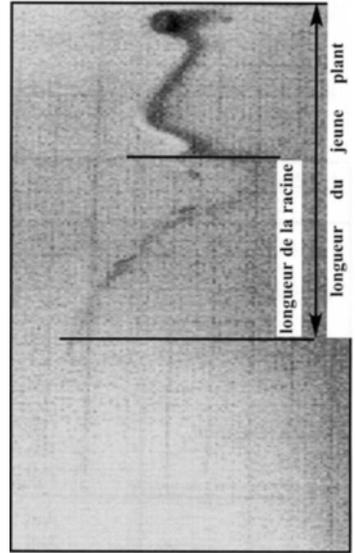


Fig. 1.- Un jeune plant de *Medicago* et les limites des deux paramètres mesurés (longueur de la racine, longueur du jeune plant).

Fig. 1.- Seedling of *Medicago* and limits of the two parameters measured (seedling and root length).

III. RÉSULTATS

A. Développement de la jeune plante à une basse température, 4 °C

La croissance de la jeune plante, déterminée par le poids, la longueur de la plante et la longueur de la racine, à 4 °C, et la capacité de résistance au froid (évaluée par le ralentissement de la croissance par rapport au témoin) ont été étudiées. Les résultats faisant intervenir ces différents paramètres sont indiqués dans les tableaux II et III.

1. Poids des jeunes plantes

Les résultats montrent un effet du froid sur le poids moyen des plantes par comparaison avec celles se développant à 19 °C. Cet effet est très variable à l'intérieur des espèces et entre les espèces. À l'intérieur des espèces, il varie d'un écotype à un autre et ceci quelle que soit la durée du traitement. La variation intra spécifique est beaucoup plus importante chez *M. ciliaris* que celle de *M. polymorpha*. Des différences significatives (test de comparaison de moyenne par couple (résultats non indiqués) ont été observées quant au taux

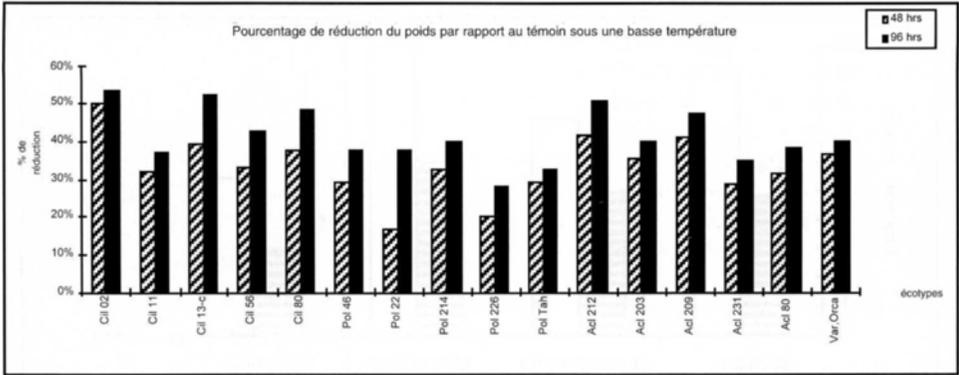


Fig. 2.- Pourcentage de réduction du poids des plantes sous une basse température, par rapport au témoin, des différentes populations, après deux et quatre jours de traitement.
 Fig. 2.- Percentage reduction of seedling weight under cold temperature, in relation to control, of different populations, after two and four days of treatment.

de réduction du poids des plantes sous un régime d'une basse température par rapport au témoin, pour les différentes populations.

Les écarts de poids entre plantes traitées et non traitées sont plus significatifs chez les écotypes de *M. aculeata* et *M. ciliaris* que chez les écotypes de *M. polymorpha*.

Après seulement 48 h de traitement, les écotypes de *M. aculeata* et *M. ciliaris* commencent à ralentir leur croissance. Sur la base de ce critère, on peut considérer que les écotypes de *M. aculeata* et *M. ciliaris* ont un pouvoir de résistance au froid plus élevé que les écotypes de *M. polymorpha* (Fig. 2). Chez *M. ciliaris*, Cil 02 présente le taux de réduction le plus élevé (50%) et Cil 11 le taux le plus faible (31.89%). Chez *M. polymorpha*, il est de 32.69% (Pol 214), taux le plus fort, et de 16.66% (Pol 22), taux le plus faible. Chez *M. aculeata*, il est de 41.69% (Acl 212), taux le plus fort, et de 28.70% (Acl 231), taux le plus faible.

Après quatre jours de traitement, l'examen des résultats (Tableau III) fait apparaître aussi une variation à l'intérieur des espèces et entre les espèces. Chez *M. ciliaris*, Cil 02 présente un taux de réduction de 54%, alors que Cil 11 présente un taux le plus faible (37.12%). Chez *M. polymorpha*, les taux varient de 28% (Pol 226), pourcentage le plus faible, à 39.66% (Pol 214), pourcentage le plus fort. Chez *M. aculeata*, le taux de réduction varie de 34.43% (Acl 231) à 50.52% (Acl 212).

Pour l'ensemble des écotypes, l'effet d'une basse température a donc entraîné une diminution du poids par rapport au témoin. Cette diminution, qui augmente avec le temps du traitement, est beaucoup plus importante chez les écotypes de *M. ciliaris* et *M. aculeata* que ceux de *M. polymorpha*. La variété "Orca" a un taux de réduction du même ordre de grandeur que ceux de *M. ciliaris* et *M. aculeata*. À l'intérieur des espèces annuelles cette réduction paraît liée à l'origine de chaque écotype. Les écotypes de haute altitude montrent une réduction de poids beaucoup plus importante que les écotypes de basse altitude.

2. Longueur de la plante

La comparaison inter-spécifique, à partir de l'examen de ce caractère, montre une variation quel que soit le temps de traitement. Mais l'écart est plus important après quatre jours

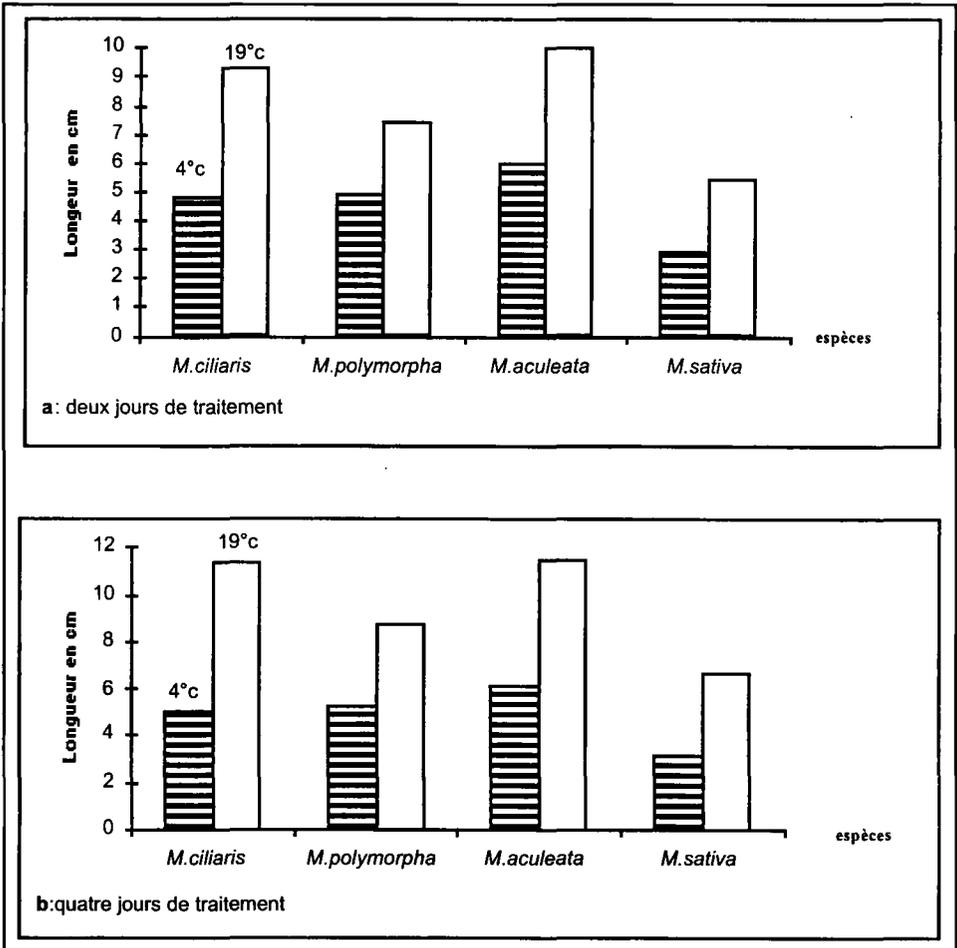


Fig. 3a et b.- Longueurs moyennes de jeunes plantes traitées (4 °C) et non traitées (19 °C), des différentes espèces étudiées de *Medicago*.

Fig. 3a and b.- Seedling length of treated (4 °C) and control (19 °C) plants, of different species of *Medicago*.

de traitement. La longueur de la jeune plante est plus développée chez *M. aculeata* que chez *M. ciliaris* et *M. polymorpha* (Fig. 3a et 3b). *M. sativa* (représentée par une seule variété), en comparaison avec les espèces annuelles, présente le plus faible développement, sous un régime de basse température.

À l'intérieur des espèces, l'effet du froid sur la longueur de la plante est variable d'un écotype à un autre. Le taux de réduction par rapport au témoin, pour ce caractère, est plus important chez les écotypes de *M. aculeata* et *M. ciliaris* que ceux de *M. polymorpha* (Fig. 4). Chez *M. ciliaris*, on note que Cil 80 présente la longueur la plus importante, sous basse température, 6.04 et 5.91 cm respectivement pour les deux traitements (Tableaux II et III), alors que l'écotype Cil 02 présente les plus faibles valeurs après deux et quatre jours de

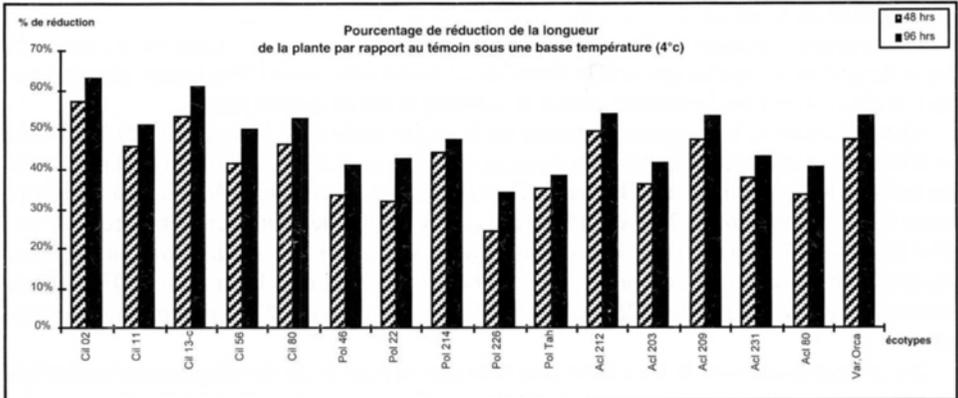


Fig. 4. - Taux de réduction de la longueur de la plante sous une basse température, par rapport au témoin, des différentes populations, après deux et quatre jours de traitement.

Fig. 4.- Percentage reduction of seedling length under cold temperature, in relation to control, of different populations, after two and four days of treatment.

traitement à basse température. Le taux de réduction, par rapport au témoin, varie lui aussi d'un écotype à un autre. L'écotype Cil 02 présente un taux de réduction de l'ordre de 57% et 63% respectivement pour deux et quatre jours de traitement (Tableaux II et III ; Fig. 4), les taux les plus élevés. Chez *M. polymorpha*, l'action d'une basse température affecte beaucoup plus l'écotype Pol 214, quelle que soit la durée de traitement, alors que Pol 226 présente le plus fort développement végétatif après deux et quatre jours de traitement avec des valeurs de l'ordre de 6 cm (Tableaux II et III).

En ce qui concerne le taux de réduction, l'écotype Pol 214 affiche la réduction la plus forte avec une valeur de l'ordre de 44% et l'écotype Pol 22 montre le plus faible pourcentage de réduction, ceci pour les deux durées de traitement au froid (Fig. 4). Chez *M. aculeata*, l'écotype Acl 80 représente le meilleur développement de la plante sous une basse température, soit avec une longueur de 6.61 cm pour le traitement de deux jours et de 5.25 cm (Acl 212) à 6.61 cm (Acl) (traitement 48 h), et de 5.50 cm (Acl 209) à 6.38 cm (Acl 80) (traitement 96 h).

Après deux jours de traitement (Tableau II), ce taux de réduction varie, chez *M. ciliaris*, de 41.19% (Cil 80) à 56.60% (Cil 02), chez *M. polymorpha*, de 24.27% (Pol 226) à 44.32% (Pol 214), et enfin, chez *M. aculeata*, de 33.37% (Acl 80) à 49.42% (Acl 212). La variété "Orca" a un taux de réduction du même ordre de grandeur que ceux de *M. aculeata* et *M. ciliaris*.

Après quatre jours de traitement (Tableau III ; Fig. 4), ce taux de réduction a augmenté pour tous les écotypes mais l'ordre ne change pas. Les écotypes de *M. ciliaris* et de *M. aculeata* ont une croissance plus réduite par rapport au témoin. Les résultats montrent aussi que les écotypes originaires de haute altitude réduisent davantage leur croissance par rapport aux écotypes originaires de basse altitude. Le test de comparaison de moyennes confirme ces résultats. La différence est hautement significative chez les écotypes originaires d'étages climatiques de hautes altitudes.

3. Longueur de la racine

Le caractère longueur de la racine varie entre les écotypes sous l'effet du traitement à basse température, quelle que soit la durée de ce traitement, mais l'écart entre plantes traitées et témoin est plus important quand le traitement est de quatre jours.

Chez *M. ciliaris*, la longueur moyenne de la racine varie de 2.11 cm (Cil 02) à 3.29 cm (Cil 80), après un traitement de deux jours, et de 2.60 cm (Cil 02) à 3.70 cm (Cil 80), après un traitement de quatre jours (Tableaux II et III). Chez *M. polymorpha*, elle est comprise entre 2.14 cm (Pol 46) et 2.89 cm (Pol Tah), à deux jours de traitement, et entre 2.25 cm (Pol 214) et 3.07 cm (Pol Tah), à quatre jours de traitement. Chez *M. aculeata*, la longueur moyenne de la racine est comprise entre 3.09 cm (Acl 212) et 4.17 cm (Acl 203), à deux jours de traitement, et entre 3.28 cm (Acl 212) et 3.94 cm (Acl 80), à quatre jours de traitement.

En comparaison avec le lot témoin, on note que les écarts du développement racinaire entre jeunes plantes traitées et non traitées sont beaucoup plus importants chez les écotypes de *M. ciliaris* et *M. aculeata* que chez *M. polymorpha* (Fig. 5).

Après deux jours de traitement, chez *M. ciliaris*, le taux de réduction de la jeune racine par rapport au témoin est de l'ordre de 49% pour Cil 02 (taux de réduction le plus élevé) alors qu'il est de l'ordre de 39% pour l'écotype Cil 56 (taux de réduction le plus faible) (Fig. 5). Chez *M. polymorpha*, on note que le pourcentage de réduction est moins important qu'au niveau de l'espèce *M. ciliaris*. Il est de 12.76% pour l'écotype Pol 226 et est de 31.35% pour l'écotype Pol 214 (Fig. 5). Cependant, la réaction de chaque écotype au traitement semble dépendre de l'origine de l'écotype. Chez *M. aculeata*, la réduction racinaire varie aussi d'un écotype à un autre, elle est plus accentuée chez l'écotype Acl 212 (46.72%) et la plus faible chez l'écotype Acl 203 (09.15%) (Fig. 5).

Après quatre jours de traitement, *M. ciliaris* et *M. aculeata* présentent les taux les plus importants en comparaison avec l'espèce *M. polymorpha*. Il apparaît aussi que la réaction des différents écotypes à l'effet du froid dépendrait en plus de l'origine de chaque écotype.

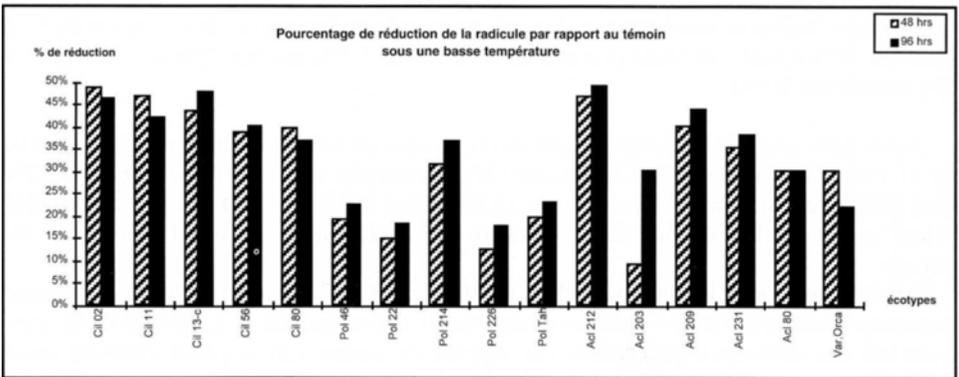


Fig. 5.- Taux de réduction de la longueur de la jeune racine sous une basse température, par rapport au témoin, des différentes populations, après deux et quatre jours de traitement.

Fig. 5.- Percentage reduction of root length under cold temperature, in relation to control, of different populations, after two and four days of treatment.

Tableau II.- Poids moyen, longueur moyenne de la jeune plante, longueur moyenne de la jeune racine et leur pourcentage de réduction par rapport au témoin, après deux jours de traitement sous une basse température.
 Table II.- Average weight, length and percentage reduction in relation to control of seedlings and roots, after two days of treatment on cold temperature.

Espèces	Poids jeune plante (g)			Longueur de la jeune plante (cm)			Longueur de la jeune racine (cm)			
	4 °C	19 °C (témoin)	Pourcentage de réduction par rapport au témoin	4 °C	19 °C (témoin)	Pourcentage de réduction par rapport au témoin	4 °C	19 °C (témoin)	Pourcentage de réduction par rapport au témoin	
<i>M. ciliaris</i>	Cil 02	0.070	0.140	50.00%	3.78	8.71	56.60%	2.11	4.12	48.79%
	Cil 11	0.079	0.116	31.89%	4.88	8.96	45.54 %	2.57	4.85	47.01 %
	Cil 13-c	0.083	0.137	39.42%	4.22	9.05	53.37%	2.33	4.13	43.58%
	Cil 56	0.077	0.115	33.04%	4.94	8.40	41.19%	2.55	4.17	38.85%
	Cil 80	0.112	0.179	37.43%	6.04	11.18	45.97%	3.29	5.46	39.74%
	Moyenne de l'espèce	0.084	0.137	38.68%	4.77	9.26	48.49%	2.57	4.55	43.52%
<i>M. polymorpha</i>	Pol 46	0.034	0.048	29.16%	4.36	6.54	33.33%	2.14	2.66	19.55%
	Pol 22	0.040	0.048	16.66%	4.95	7.24	31.63%	2.37	2.78	14.75%
	Pol 214	0.035	0.052	32.69%	3.87	6.95	44.32%	2.19	3.19	31.35%
	Pol 226	0.052	0.065	20.00%	5.99	7.91	24.27%	2.67	3.06	12.76%
	Pol Tah	0.049	0.069	28.98%	5.46	8.39	34.92%	2.89	3.60	19.72%
	Moyenne de l'espèce	0.042	0.056	25.00%	4.93	7.41	33.47%	2.45	3.06	19.93%
<i>M. aculeata</i>	Acl 212	0.094	0.161	41.61%	5.25	10.38	49.42%	3.09	5.80	46.72%
	Acl 203	0.099	0.153	35.29%	6.28	9.79	35.85%	4.17	4.59	09.15%
	Acl 209	0.096	0.163	41.10%	5.56	10.58	47.45%	3.32	5.56	40.29%
	Acl 231	0.077	0.108	28.70%	5.74	9.23	37.81%	3.28	5.08	35.43%
	Acl 80	0.104	0.152	31.58%	6.61	9.92	33.37%	3.57	5.12	30.27%
	Moyenne de l'espèce	0.094	0.147	36.05%	5.89	9.98	40.98%	3.49	5.23	33.27%
<i>M. sativa</i>	Var. Orca	0.021	0.033	36.36%	2.86	5.40	47.04%	3.57	5.12	30.27%

Tableau III.- Poids moyen, longueur moyenne de la jeune plante, longueur moyenne de la jeune racine et leur pourcentage de réduction par rapport au témoin, après quatre jours de traitement sous une basse température.
 Table III.- Average weight, length and percentage reduction in relation to control of seedlings and roots, after four days of treatment on cold temperature.

Espèces	Poids jeune plante (g)				Longueur de la jeune plante (cm)				Longueur de la jeune racine (cm)				
	Ecotypes	4 °C	19 °C (témoin)	Pourcentage de réduction par rapport au témoin	4 °C	19 °C (témoin)	Pourcentage de réduction par rapport au témoin	4 °C	19 °C (témoin)	Pourcentage de réduction par rapport au témoin	4 °C	19 °C (témoin)	Pourcentage de réduction par rapport au témoin
<i>M. ciliaris</i>	Cil 02	0.079	0.170	53.53%	4.05	10.99	63.15%	2.60	4.86	46.50%	2.60	4.86	46.50%
	Cil 11	0.083	0.132	37.12%	5.26	10.72	50.93%	3.15	5.47	42.41%	3.15	5.47	42.41%
	Cil 13-c	0.080	0.167	52.10%	4.57	11.57	60.50%	2.61	5.02	48.01%	2.61	5.02	48.01%
	Cil 56	0.081	0.141	42.55%	5.37	10.78	50.19%	2.91	4.88	40.37%	2.91	4.88	40.37%
	Cil 80	0.104	0.201	48.26%	5.91	12.48	52.64%	3.70	6.30	36.98%	3.70	6.30	36.98%
Moyenne de l'espèce	0.085	0.162	47.53%	5.03	11.31	55.53%	2.99	5.31	43.98%	2.99	5.31	43.98%	
<i>M. polymorpha</i>	Pol 46	0.037	0.055	37.73%	4.51	7.59	40.58%	2.26	2.91	22.34%	2.26	2.91	22.34%
	Pol 22	0.038	0.061	37.70%	4.89	8.50	42.47%	2.74	3.35	18.21%	2.74	3.35	18.21%
	Pol 214	0.035	0.058	39.66%	4.36	8.30	47.47%	2.25	3.55	36.62%	2.25	3.55	36.62%
	Pol 226	0.054	0.075	28.00%	6.36	9.60	33.75%	2.87	3.49	17.77%	2.87	3.49	17.77%
	Pol Tah	0.050	0.074	32.43%	5.82	9.45	38.41%	3.07	3.99	23.06%	3.07	3.99	23.06%
	Moyenne de l'espèce	0.043	0.065	33.85%	5.19	8.69	40.28%	2.64	3.46	23.70%	2.64	3.46	23.70%
<i>M. aculeata</i>	Ac1 212	0.095	0.192	50.52%	5.65	12.18	53.61%	3.28	6.44	49.07%	3.28	6.44	49.07%
	Ac1 203	0.107	0.177	39.55%	6.52	11.14	41.47%	3.59	5.14	30.16%	3.59	5.14	30.16%
	Ac1 209	0.103	0.196	47.45%	5.50	11.79	53.35%	3.32	5.95	44.20%	3.32	5.95	44.20%
	Ac1 231	0.080	0.122	34.43%	6.11	10.74	43.11%	3.47	5.61	38.15%	3.47	5.61	38.15%
	Ac1 80	0.108	0.175	38.29%	6.83	11.43	40.24%	3.94	5.66	30.39%	3.94	5.66	30.39%
	Moyenne de l'espèce	0.099	0.172	42.44%	6.12	11.46	46.60%	3.52	5.76	38.89%	3.52	5.76	38.89%
<i>M. sativa</i>	Var. Orca	0.024	0.040	40.00%	3.11	6.63	53.09%	1.79	2.30	22.17%	1.79	2.30	22.17%

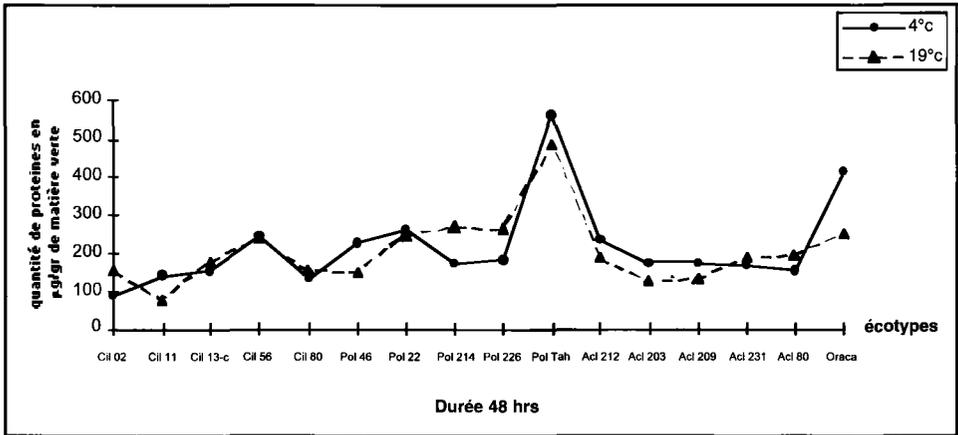


Fig. 6.- Quantité de protéines chez les écotypes traités (4 °C) et les écotypes non traités (19 °C) ; durée du traitement 48 h.

Fig. 6.- Protein content of treated (4 °C) and control (19 °C) ecotypes; duration 48 h.

B. Analyse quantitative des protéines

Des modifications quantitatives des protéines surviennent souvent lors du traitement des plantes par une basse température. Ces modifications dépendent de la nature de la plante (tolérante ou sensible). Chez le genre *Medicago* on relie souvent la tolérance après traitement au froid avec l'augmentation de la teneur en protéines.

Après deux jours de traitement (Fig. 6), chez *M. ciliaris*, les écotypes Cil 11, Cil 56 et Cil 80 montrent une augmentation de la quantité de protéines. Cependant, cette augmentation n'est significative (test de comparaison de moyenne par couple) que pour Cil 11. Cil 02 et Cil 13-c montrent une diminution non significative. Chez *M. polymorpha*, l'augmentation n'est significative que pour Pol 46 et la diminution n'est significative que pour Pol 226. Chez *M. aculeata*, Acl 203, Acl 209, et Acl 212 ont des augmentations protéiques non significatives. Acl 80 affiche une diminution significative. La variété "Orca" a une augmentation non significative.

Après quatre jours de traitement (Fig. 7), les écotypes montrant une augmentation de la quantité de protéines sont Cil 02, Cil 80 (*M. ciliaris*), Pol 46 (*M. polymorpha*), Acl 203, Acl 80 (*M. aculeata*) et la variété "Orca". Mais ces augmentations restent toujours non significatives, sauf pour Cil 80. Ces résultats montrent aussi que ce sont les écotypes de hautes altitudes qui manifestent les réactions les plus importantes.

IV. DISCUSSION

La réponse d'une plante à l'action d'une basse température se traduit par deux aspects différents :

- le premier est caractérisé par un bon développement de la jeune plante durant les premiers stades de croissance, sous un régime de basse température (4 °C), des écotypes « tolérants » et un développement beaucoup moins important des écotypes « sensibles » ;

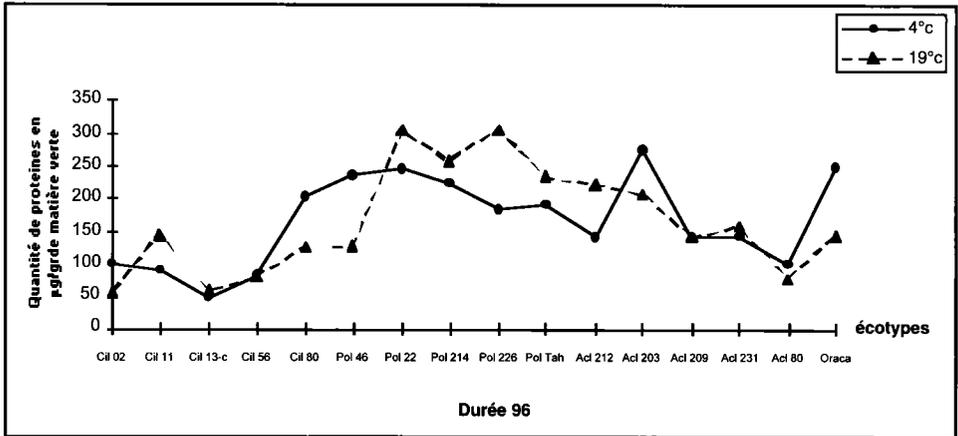


Fig. 7.- Quantité de protéines chez les écotypes traités (4 °C) et les écotypes non traités (19 °C) ; durée du traitement 96 h.

Fig. 7.- Protein content of treated (4 °C) and control (19 °C) ecotypes; duration 96 h.

- le deuxième est caractérisé par la réduction de la croissance (par rapport au témoin) constatée chez les écotypes « tolérants ».

A. Ralentissement du développement à basse température

Lorsque des variétés tolérantes au froid subissent un traitement à basse température (pendant quelques jours, voire quelques semaines), le développement de la plante issue de germination est plus important que celui des variétés sensibles.

Beaucoup d'auteurs montrent cet aspect. Maheswaran et Subramanian (1989) montrent, chez le Riz, que les variétés tolérantes ont le taux de survie le plus élevé (plus de 50%) et la longueur de la jeune plante la plus importante (plus de 10 cm). Toujours chez le Riz, Jacquot *et al.* (1992) présentent une étude sur le comportement des germinations dans l'eau à température constante de 13 °C. Dans cette analyse, ils constatent qu'une bonne elongation est corrélée avec la résistance au froid.

D'un autre côté, chez le Maïs, Hope et Maamari (1994) trouvent que le temps de production de 1 cm de coléoptile à 11 °C est un bon prédicteur de la tolérance au froid. Les variétés tolérantes ont un temps plus rapide pour former 1 cm de coléoptile. Chez le Navet, Nykiforuk et Johnson-Flanagan (1994) montrent qu'il existe une différence de développement à basse température de la jeune plante entre deux variétés. La variété tolérante a un développement plus rapide par rapport à la variété sensible.

Dans notre travail, nous constatons que :

- entre espèces, le développement de la jeune plante issue de germination soumise à un régime de basse température est plus important chez *M. aculeata* et *M. ciliaris* et que ceux de *M. polymorpha* et *M. sativa* sont beaucoup plus faibles ; il apparaît donc clairement que *M. aculeata* et *M. ciliaris* sont plus tolérantes que *M. polymorpha* et *M. sativa* ; cependant, il est possible que cette différence, visible seulement au niveau spécifique, soit reliée à la taille des graines de chaque espèce ; cette relation déjà observée chez d'autres espèces (Black, 1957 ; Stebbins, 1976) ne serait pourtant pas une règle

absolue lors d'un traitement à basse température (Barber *et al.*, 1991 ; Nykiforuk & Johnson-Flanagan, 1994) ;

- au niveau intraspécifique, les résultats montrent que le bon développement de la jeune plante soumise à un régime de basse température est lié à l'origine de chaque population ; en effet, les populations Acl 212, Acl 203, Acl 209, Pol 226, Pol 22, Cil13-c et Cil 11, toutes originaires des sites de hautes altitudes et à hiver très froid, montrent une supériorité dans le développement par rapport aux populations originaires des sites des basses altitudes et à hiver doux ; ces résultats confirment ceux obtenus avec les écotypes de *M. aculeata* et *M. truncatula* (Bounejmata *et al.*, 1993) et d'autres auteurs qui ont conclu que l'origine climatique joue un rôle important dans la tolérance au froid (Jones & Peterson, 1976 ; Eagles & Hardacre, 1979 ; Eagles & Brooking, 1981).

B. Traitement sous un régime de basse température et degré de réduction de la croissance par rapport au témoin

L'une des conséquences directes d'un traitement par une basse température, que ce soit en milieu contrôlé ou en milieu naturel, est le ralentissement, voire même le blocage de la croissance. Mais ce ralentissement et cet arrêt dépendent en réalité de la tolérance ou de la sensibilité de la plante. Chez les céréales par exemple, les différences entre génotypes ne peuvent s'exprimer pleinement qu'après traitement préalable au froid. Sans traitement, en effet, les génotypes « résistants » sont aussi fragiles que les génotypes sensibles (Doussinault *et al.*, 1992).

Chez la Luzerne (*Medicago sativa* L.), l'augmentation de la tolérance au gel est inversement liée à la croissance (Paquin, 1985). Toujours chez la Luzerne, la tolérance au froid et la dormance automnale sont associées positivement (Perry *et al.*, 1987).

Les résultats montrent que *M. ciliaris* et *M. aculeata* ont un degré de tolérance à une basse température, exprimé par le taux de réduction de développement par rapport au témoin (Tableaux II et III) plus important que *M. polymorpha*.

Pour la longueur de la jeune plante, la longueur est réduite, après deux jours de traitement, de 48.49% (*M. ciliaris*), de 40.98% (*M. aculeata*) et de 33.47% (*M. polymorpha*) (Tableau II). Ce pouvoir de tolérance augmente avec la durée du traitement. Le taux de réduction, après quatre jours de traitement, devient supérieur à 100% (*M. ciliaris*) et de 87.58% (*M. aculeata*). *M. polymorpha* garde le taux le plus faible (73.75%) (Tableau III).

À l'intérieur des espèces le degré de tolérance (taux de réduction) diffère d'un écotype à un autre et on distingue :

- les écotypes qui ont une tolérance très élevée (50% et plus de réduction) ; ce sont les écotypes originaires d'étages climatiques de hautes altitudes et où ils sont fréquents ou abondants, tels que Acl 212, Acl 209, Cil 13-c, Cil 11, "Orca" ;
- les écotypes à tolérance moyenne (entre 40% et 50% de réduction), tels que Pol 46, Pol 22, pol 214, Acl 203, Acl 231 et Acl 80 ;
- et enfin les écotypes à faible tolérance (inférieur à 40% de réduction), tels que Pol 226, et Pol Tah.

D'un autre côté, les résultats montrent qu'il existe une relation entre l'origine géographique et la tolérance au froid. Les écotypes originaires des sites à haute altitude présentent non seulement les meilleurs taux de développement sous un régime de basse température, mais aussi des taux de réduction du développement végétatif importants vis-à-vis des écotypes témoins. À titre d'exemple, la longueur de la jeune plante, chez *M. aculeata* (Acl 212) qui est originaire d'un site situé à plus de 1 000 m d'altitude, cet écotype arrête presque sa croissance (53.61% de réduction), en comparaison avec le témoin, après

seulement une exposition de deux jours à 4 °C (Tableau II). Pol 22, originaire d'un site à plus de 1 100 m d'altitude où les périodes de gel sont fréquentes, ralentit sa croissance (42.47%), bien qu'appartenant à une espèce considérée comme sensible au froid.

Le développement de la jeune racine est très réduit chez les écotypes originaires de haute altitude. Il est beaucoup plus réduit sous traitement chez les écotypes de *M. aculeata* et de *M. ciliaris* que chez les écotypes de *M. polymorpha*, en comparaison avec les écotypes témoins. Cependant à l'intérieur de chaque espèce, ce développement dépend aussi de l'origine de l'écotype. Le développement réduit du système racinaire pourrait jouer un rôle dans le ralentissement de la croissance permettant ainsi à la plante de devenir plus tolérante.

C. Variation dans la quantité des protéines sous un régime de basse température

Même si, d'une manière générale, la différence entre la quantité de protéines chez les jeunes plantes traitées et celles non traitées n'est pas significative, quelques écotypes présentent une différence significative après deux jours de traitement. Cette dernière est plus importante chez les populations à forte fréquence en haute altitude, Cil 11, Acl 209 et Acl 203, et moins importante chez les populations à faible fréquence en haute altitude, Pol 226. Ceci rejoint les résultats de Mohapatra *et al.* (1987) qui stipulent que les cultivars de Luzerne tolérants au froid montrent un augmentation de leur teneur protéique deux jours seulement après leur traitement.

En ce qui concerne l'aspect qualitatif (résultats non présentés), quelques écotypes ont montré des différences entre jeunes plantes traitées et non traitées mais non reproductibles. C'est pour cette raison qu'une relation nette pour cet aspect n'a pas été mise en évidence dans cette analyse. Bien que le rôle de ces protéines ne soit pas bien défini (Boothe *et al.*, 1997), il est largement reconnu que la relation entre les changements qualitatifs et la tolérance au froid existe (Ouellet *et al.*, 1993 ; Monroy & Dhindsa, 1995).

V. CONCLUSION

Grâce à cette étude, il a été possible d'évaluer, pour des jeunes plantes de *Medicago*, la variabilité génétique pour la tolérance au froid et de trouver un test fiable et précoce permettant de détecter cette même tolérance. La relation tolérance au froid et origine climatique est un bon critère de sélection d'écotypes tolérants. Le développement de la tolérance au gel pourrait être une opportunité d'extension des populations annuelles du genre *Medicago* dans les systèmes de rotations « céréale-luzerne » dans les régions des hauts plateaux.

Les espèces adaptées à une vie en altitude sont plus tolérantes au froid que celles provenant de régions moins élevées. Des travaux ultérieurs (d'ordre biochimique) pourraient permettre de mieux connaître les mécanismes intervenant dans ces capacités de résistance et d'adaptation au froid. Il serait aussi intéressant de développer les aspects morphologiques (de façon préalable) en rapport avec cette propriété.

BIBLIOGRAPHIE

- Antikainen M. & S. Pihakaski, 1993.- Cold induced changes in the polysome pattern and protein synthesis in winter rye (*Secale cereale*) leaves. *Physiologia Plantarum*, **89**, 111-116.
- Barber S.J., G. Rakow & R.K. Downey, 1991.- Influence of seed pre-treatments with plant growth regulators on metabolic alterations on germinating maize embryos under stressing temperature regimes. *Ann. Bot. (London)*, **64**, 37-41.
- Black J.N., 1957.- The early vegetative growth of three strains of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in relation to seed size. *Aust. J. Agric. Res.*, **8**, 1-14.
- Boothe J.G., F.D. Sönnichsen, M.D. de Beus & A.M. Johnson-Flanagan, 1997.- Purification, characterization, and structural analysis of a plant low-temperature-induced protein. *Plant Physiol.*, **113**, 367-376.
- Bounejmata M., A.D. Robson & S.P. Loss, 1993.- *Effects of temperature and frost on genotypes of Medicago truncatula L. and Medicago aculeata L. from contrasting climatic origins.* Soil Science and Plant Nutrition, Response of annual medics to low temperature and frost, School of Agriculture, University of Western Australia, 1-26.
- Doussinault G., F. Kaan, C. Leconte & P. Monneveux, 1992.- Les céréales à paille : présentation générale. In : *Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélections.* A. Gallais & H. Bannerot (eds.), INRA, Paris, 13-21.
- Eagles H.A. & I.R. Brooking, 1981.- Populations of maize with more rapid and reliable seedling emergence than combelt dents at low temperature. *Euphytica*, **30**, 755-763.
- Eagles H.A. & A.K. Hardacre, 1979.- Genetic variation in maize (*Zea mays* L.) for germination and emergence at 10 °C. *Euphytica*, **28**, 287-295.
- Guy C.L., 1990.- Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. *Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.*, **41**, 187-223.
- Guy C.L. & D. Haskell, 1987.- Induction of freezing tolerance in Spinach is associated with the synthesis of cold acclimation induced proteins. *Plant Physiology*, **84**, 872-878.
- Guy C.L. & D. Haskell, 1989.- Preliminary characterization of high molecular mass protein associated with cold acclimation in Spinach. *Plant. Physiol. Biochem.*, **27**, 777-784.
- Guy C.L., D. Haskell & G. Yelenosky, 1988.- Changes in freezing tolerance and polypeptide content of spinach and citrus at 5 °C. *Cryobiology*, **25**, 264-271.
- Guy C.L., R.L. Hummel & D. Haskell, 1987.- Induction of freezing tolerance in Spinach during cold acclimation. *Plant Physiology*, **84**, 868-871.
- Hardacre A.K. & H.A. Eagles, 1980.- Comparisons among populations of maize for growth at 13 °C. *Crop. Sci.*, **20**, 780-784.
- Hope H.J. & R. Maamari, 1994.- Measurement of maize cold tolerance during germination. *Seed Sci. and Technol.*, **22**, 69-77.
- Jacquot M., G. Clement, E. Guiderdoni & B. Pons, 1992.- Le Riz. In : *Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélections.* A. Gallais & H. Bannerot (eds.), INRA, Paris, 71-88.
- Jones D.B. & M.L. Peterson, 1976.- Rice seedling vigor at sub-optimal temperatures. *Crop Science*, **16**, 102-105.
- Kurkela S., M. Franck, P. Heino, V. Lang & E.T. Palva, 1988.- Cold induced gene expression in *Arabidopsis thaliana* L. *Plant cell reports*, **7**, 495-498.
- Lance C. & F. Morau, 1992.- Les effets métaboliques du froid. In : *Les végétaux et le froid.* D. Côme (ed.), Coll. Méthodes, Hermann, Paris, 27-50.
- Lowry O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr & R.J. Randall, 1951.- Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- Maheswaran M. & M. Subramanian, 1989.- Screening rice seedlings for cold tolerance. *IRRN*, **14** (4), 21.
- Mohapatra S.S., J.P. Ronald & R.S. Dhindsa, 1987.- Change in protein patterns and translatable messenger RNA populations during cold acclimation of alfalfa. *Plant Physiol.*, **84**, 1172-1176.
- Mohapatra S.S., L. Wolfrain, R.J. Poole & R.S. Dhindsa, 1989.- Molecular cloning and relationship to freezing tolerance of cold-acclimation-specific genes of alfalfa. *Plant Physiol.*, **89**, 375-380.
- Monroy A.F. & R.S. Dhindsa, 1995.- Low-temperature signal transduction: induction of cold acclimation-specific genes of alfalfa by calcium at 25 °C. *The Plant Cell*, **7**, 321-331.
- Nykiforuk C.L. & A.M. Johnson-Flanagan, 1994.- Germination and early seedling development under low temperature in canola. *Crop Science*, **34**, 1047-1054.
- Ort D.R., S. Martino, R.R. Weise, J. Kent & P. Cooper, 1989.- Changes in protein synthesis induced by chilling and their influence on the chilling sensitivity of photosynthesis. *Plant Physiol. Biochem.*, **27**, 785-793.
- Ouellet F., M. Houde & F. Sarhan, 1993.- Purification, characterisation and cDNA cloning of the 200 Kda protein induced by cold acclimation in wheat. *Plant Cell Physiol.*, **34**, 59-65.
- Paquin R., 1985.- Survie à l'hiver des plantes fourragères et des céréales sous les climats nordiques, en particulier au Québec: progrès et prospectives. *Phytoprotection*, **66**, 105-139.
- Perras M. & F. Sarhan, 1989.- Synthesis of freezing tolerance proteins in leaves crown, and roots during cold acclimation of wheat. *Plant Physiol.*, **89**, 77-85.
- Perry M.C., M.S. McIntosh, W.J. Wiebold & M. Welterten, 1987.- Genetic analysis of cold hardiness and dormancy in alfalfa. *Genome*, **29**, 144-149.
- Prosperi J.M., M. Angevian, G. Genier, I. Olivier & P. Mansat, 1993.- Sélection de nouvelles légumineuses fourragères pour les zones difficiles méditerranéennes. *Fourrages*, **135**, 343-354.
- Stebbins G.L., 1976.- Seed and seedling ecology in annual legumes. I - A comparison of seed size and seedling development in some annual species. *Oecol. Plant.*, **11**, 321-331.