

Morpho-physiological and anatomical responses of Cork Oak (*Quercus suber* L.) seedlings under shade and drought stress

Réponses morpho-physiologique et anatomique de jeunes plants de chêne liège (*Quercus suber*. L) face aux effets de l'ombre et du stress hydrique

M. ABASSI ^{1*}, R. ZOUAOUI ¹, K. MGUI ^{1,2}, A. YOUSSEF ¹, Z. BEJAOU ^{1,3}

¹ University of Carthage, National Institute of Research on Rural Engineering Water and Forests (Tunisia)

² University of Tunis El Manar, Institut Supérieur des Technologies Médicales de Tunis (ISTMT)

³ University of Carthage, Faculty of sciences of Bizerte

*Corresponding author: mej_abassi@yahoo.fr

Abstract – This study aims to identify the variability in response to the effects of shade and water stress on the morpho-physiological and anatomical behavior of cork oak seedlings (*Quercus suber* L.) originated from two different eco-geographical zones. The first population, Kef Rend (KR) is native from Haouaria (North – East), in a higher subhumid bioclimate, while the second one Ben Metir (BM) is from Ain Drahem (Nord – Ouest) in a higher humid bioclimate. Different morphological, biochemical and anatomical variables were measured. The results showed that the effect of shade stimulated both the relative height growth of stems and the elongation of leaves in cork oak plants. In contrast, a decrease in the relative growth of diameter was recorded. Specific leaf area (SLA) was increased in KR and BM plants resulting in a decrease in leaf thickness. In addition, the total chlorophyll content increased under this constraint. Under water stress, the relative water content (RWC) as well as the chlorophyll contents were significantly reduced. However, these declines were less pronounced under shade treatment. The combined effect of shade and water stress induced a reduction in (SLA) while leaf sections become thicker. Such modifications were more pronounced in BM plants. This study showed, at a juvenile stage of growth, that Ben Metir (BM) plants seem to have more efficient adaptation mechanisms to the combined effect of shade and water stress.

Keywords: *Quercus suber* ; shade ; water stress ; chlorophyll contents ; relative water content ; Specific leaf area ; thickness.

Résumé - Cette étude vise à identifier la variabilité en réponse aux effets de l'ombre et du stress hydrique sur le comportement morpho physiologique et anatomique de jeunes plants de chêne liège (*Quercus suber* L.) issus de deux populations à répartition éco géographique différente. La population Kef Rend (KR) est originaire de la région de Haouaria qui est à bioclimat sub-humide supérieur alors que la population Ben Metir (BM) provenant de la région d'Ain Drahem est à bioclimat humide supérieur. Pour atteindre cet objectif, plusieurs variables morphologiques, biochimiques et anatomiques ont été mesurées. Les résultats obtenus ont montré que l'effet de l'ombre a stimulé aussi bien la croissance relative en hauteur des tiges que l'élongation des feuilles chez les plants de chêne liège. A l'opposé une baisse de la croissance relative du diamètre au collet a été enregistrée. La surface spécifique foliaire (SFS) a augmenté chez les plants KR et BM. Cette modification s'est traduite par une baisse de l'épaisseur des feuilles. De plus les teneurs en chlorophylles totales ont augmenté sous cette contrainte. Sous stress hydrique, la teneur relative en eau (TRE) ainsi que la concentration en chlorophylles ont été significativement réduites. Toutefois, ces baisses ont été moindres sous ombre. L'effet combiné de l'ombre et du stress hydrique a induit une réduction de la (SFS) ainsi qu'un épaississement des sections de feuilles qui a été toutefois plus accentué chez les plants BM. Cette étude a montré à un stade juvénile de croissance que les plants de Ben Metir (BM) semblent disposer de mécanismes d'adaptation plus efficaces face à l'effet combiné de l'ombre et du stress hydrique.

Mots clés : *Quercus suber*, ombre, stress hydrique, chlorophylles, TRE, SFS, épaississement



1. Introduction

Le chêne-liège (*Quercus suber* L.) est une espèce sclérophylle de la famille des Fabacées qui est endémique du bassin méditerranéen (Zine El Abidine et al. 2016). En effet cette espèce y est présente depuis plus de 60 millions d'années (Passarinho et al. 2006). C'est l'espèce forestière feuillue autochtone, la plus représentée dans le couvert végétal du Nord-Ouest Tunisien et particulièrement en Kroumirie (DGF 1995 ; MALE 2016). Les forêts de chêne liège sont associées à une biodiversité remarquable et constituent des écosystèmes uniques reconnus par leur haute valeur écologique et paysagère (Silva and Catry 2006). C'est une ressource naturelle noble et rare qui a été toujours recherchée pour son écorce (le liège), son bois de bonne valeur calorifique et ses glands très appréciés par les animaux sauvages et domestiques (Bouchaour-Djabeur et al. 2011). Par ailleurs, la chasse, la cueillette des champignons, la production de miel et le tourisme sont d'autres utilisations des forêts de chêne-liège (KOICA 2011 ; FAO 2016). Cependant, la chênaie a connu une réduction drastique de sa superficie qui est passée au cours des 80 dernières années de 140 000 ha à 70 000 ha (Selmi 2006). En effet, la pression exercée par la population locale à travers le surpâturage, l'utilisation des glands pour l'alimentation des animaux et l'extraction du bois de chauffage auraient accéléré la dégradation de la chênaie (Le Houérou 1980 ; PIF 2016 ; Kim HN et al. 2017). Cette situation est davantage aggravée par les effets des changements climatiques qui freinent la régénération naturelle des semis de chêne à travers une multitude de contraintes comme la hausse des températures, la lumière intense et le stress hydrique (FAO 2016 ; PIF 2016). La faible disponibilité en eau notamment durant la période estivale peut altérer plusieurs processus physiologiques pouvant avoir des conséquences néfastes sur la survie et la croissance des jeunes plants de chêne liège. Afin de faire face à cette contrainte, les semis de chêne développent des ajustements morpho-physiologiques à l'échelle des racines qui sont fortement développées et pivotantes (Ksontini 1996 ; Daoudi et al. 2016). Les feuilles sont plus épaisses et de surface réduite ce qui permet une meilleure efficacité de l'eau (Aranda et al. 2005 ; Quero et al. 2006). Ces modifications morphologiques sont accompagnées par des ajustements au niveau de la cellule comme l'accumulation des osmoticum afin de maintenir la turgescence des cellules permettant à la plante d'assurer ses fonctions physiologiques malgré les contraintes abiotiques (De Ronde et al. 2004 ; Deligoz and Gur 2015). En plus de la faible disponibilité de l'eau, la lumière figure parmi les ressources les plus importantes pour la survie des plantes (Lone and Khan 2007). Diverses recherches ont mentionné que sous conditions de déficit hydrique, l'ombre produite par la canopée atténue l'impact de cette contrainte et améliore la survie et l'état physiologique des semis de chêne en diminuant les demandes d'évaporation et de rayonnement lumineux (Hastwell and Facelli 2003 ; Quero et al. 2006). Toutefois, les conditions de limitation en lumière (ombre) peuvent induire des changements dans la morphologie des jeunes semis de chêne ainsi que des modifications de la structure de leurs feuilles (Daas ghrib 2009). Ainsi, une stimulation de l'élongation des tiges et des entrenœuds est souvent mentionnée sous l'effet de l'ombre (Cornic 2014). A l'opposé, la croissance radiale est négativement affectée comme ceci a été prouvé chez *Quercus suber* et *Pistacia lentiscus* (Hernández et al. 2009). La surface spécifique des feuilles augmente sous ombre (Zhang et al. 2016) ce qui traduit des feuilles de plus faible épaisseur (Gregoriou et al. 2007). Ces modifications sont souvent accompagnées par une augmentation des teneurs en chlorophylles (Quero et al. 2006). Malgré l'importance des recherches consacrées à cette espèce dans le bassin méditerranéen, les mécanismes développés par les semis de chêne liège en réponse à l'effet du déficit hydrique, de l'ombre ou leurs effets combinés restent mal connus (Kanouni 2013 ; Myeong et al. 2018). D'autre part, le chêne liège est connue par sa large variabilité intra spécifique qui peut influencer les réponses des diverses populations face aux diverses contraintes du milieu (Ksontini et al. 1998 ; Abdessamad et al. 2015). Compte tenu de cette variabilité, une meilleure compréhension des effets de l'impact du déficit en lumière et de l'eau sur les aspects morpho- physiologiques et anatomiques permettra d'identifier à un stade juvénile les populations de chêne liège les mieux adaptées à cette double contrainte. C'est l'objectif de cette étude.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel végétal et conditions de culture

L'expérimentation a été menée à la pépinière de l'Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts de Tunis, à bioclimat semi-aride supérieur à hiver doux (36 °50 N, 10 ° 14 E et 3 m d'altitude). La pluviométrie moyenne annuelle est de l'ordre de 475 mm avec des températures moyennes mensuelles minimale de 7,2 °C et maximale de 34,8°C (Abassi et al. 2004). Elle a porté sur des plants âgés de six mois de deux populations de chêne liège, Kef Rend et Ben Metir (Tableau 1) qui sont issues de deux régions à répartition géographique et sous bioclimat différents (Fig.1). Ces plants conduits sous

arrosage optimal (à la capacité au champ) ont été divisés en deux lots qui ont été soumis à deux traitements avec une intensité lumineuse différente. Le traitement témoin correspond aux plants conduits sous lumière naturelle soit (ILN 100%). Le traitement sous ombre correspond aux plants conduits sous une ombrière réduisant de 50% l'intensité lumineuse naturelle soit (ILN 50%). L'intensité lumineuse a été quantifiée à l'aide d'un luxmètre (HD 8366, Silicon Sensor, Delta OHM). Le traitement par ombrage a été appliqué durant 90 jours au cours desquels différentes variables morphologiques ont été mesurées. Au terme de cette période un stress hydrique a été appliqué par un arrêt de l'irrigation jusqu'à atteindre un seuil sévère de déshydratation. Ce seuil est estimé par une conductance stomatique des plants inférieure au seuil de $50 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Medrano et al. 2002). Pour notre expérimentation ce seuil a été atteint au bout de 15 jours d'arrêt de l'irrigation des jeunes plants de chêne. Les plants ont été distribués selon un dispositif expérimental en quatre blocs aléatoires complets. Chaque bloc est composé de deux zones où chacune est assignée de façon aléatoire à une population. Dans chaque zone 20 plants ont été utilisés qui correspondent aux deux traitements (10 plants par population par bloc \times 2 traitements), à raison d'un plant par pot, soit un total de 80 plants par population (quatre blocs \times 20 plants par population par bloc).

Tableau 1. Caractérisation géographique et bioclimatique des deux sites des populations de chêne liège (*Quercus suber* L.).

Sites / Populations	Régions	Répartition géographique	Bioclimats	Pluviométrie annuelle moyenne (mm)	Température annuelle moyenne (°C)	Coordonnées lomulaire
Kef Rend (KR)	Haouaria	Nord-est (Cap Bon)	Sub-Humide supérieur à hiver chaud	625	18	368239° N 107697° E 632 m
Ben Metir (BM)	Ain Drahem	Nord-ouest (Kroumirie)	Humide supérieur à hiver tempéré	1020	16	367544° N 87514° E 423 m



Figure 1. Carte du Nord de la Tunisie indiquant les deux régions prospectées (Cap Bon et Kroumirie) desquelles sont issues les populations de chêne liège (*Quercus suber* L.).

2.2. Variables mesurées

2.2.1. Croissance

La croissance des plants des deux populations de chêne liège sous lumière naturelle ou ombre a été suivie par le biais de la mesure de la hauteur de la tige principale (cm), le diamètre au collet (mm), la surface foliaire (cm^2) et l'élongation foliaire (mm). Cette variable a été évaluée sur des feuilles nouvellement formées au niveau de l'apex. Les mesures ont été prises tous les 4 jours après l'application des traitements sur cinq plants choisis aléatoirement par traitement, et ce durant 60 jours.

L'accroissement relatif journalier des tiges en hauteur et au diamètre au collet a été exprimé selon la formule de Beadle (1993) :

$$\text{TCR} = (\ln W2 - \ln W1) / (t2 - t1)$$

où W2 et W1 représentent la longueur des tiges ou le diamètre au collet au bout d'une durée de stress t₂. t₁ qui est de 90 jours.

Ces variables ont été mesurées sur 10 plants / traitement / population.

2.2.2. Teneur relative en eau

La teneur relative en eau (TRE) des plants conduits sous ombrage ou /et stress hydrique a été mesurée à la fin de la période du stress hydrique en utilisant dix plants choisis aléatoirement par traitement sur des feuilles matures les plus exposées au soleil. Le poids frais (PF) a été déterminé immédiatement après la récolte, puis les feuilles sont laissées dans de l'eau distillée pendant 24 h à 4 ° C, afin de déterminer le poids à saturation (Psat). Le poids sec (PS) a été obtenu après séchage à 75 ° C pendant 72 h. TRE est calculée par la formule suivante :

$$\text{TRE} (\%) = [(PF - PS) / (Psat - PS)] * 100$$

2.2.3. Surface foliaire spécifique (SFS)

La surface foliaire spécifique qui est un important indicateur de l'épaisseur des feuilles (Björkman 1981), a été déterminée sur les plants, des deux populations, conduits sous lumière naturelle et ombre et soumis à un stress hydrique. La surface foliaire spécifique (SFS en cm².g⁻¹ de matière sèche) exprime le ratio de la surface foliaire sur le poids sec spécifique de chaque feuille. Ces mesures ont été réalisées à la fin des traitements sur 5 feuilles en pleine expansion / plant / traitement / population (soit un total de 50 feuilles/ traitement / population). La surface de chaque feuille (cm²) a été déterminée, puis son poids de la matière sèche (MS en g) a été mesuré après séchage dans une étuve à 60° C, jusqu'à atteindre un poids constant.

2.2.4. Anatomie des feuilles

La structure anatomique des feuilles a été étudiée par le biais de coupes histologiques réalisées sur des feuilles en pleine expansion recueillies dans la partie médiane de la plante. Ces mesures ont été réalisées, à la fin de chaque traitement, sur des feuilles à pleine expansion à raison de 3 feuilles/plant/traitement/population/bloc, situées au même rang, dans leur partie médiane. Des fragments de feuilles de 1 cm de côté ont été prélevés de part et d'autre de la nervure principale. Ces fragments ont été immédiatement fixés durant trois heures à température ambiante par une solution de glutaraldéhyde à 2 % tamponnée à 0.1 M de sodium cacodylate à pH 7.4 (Sabatini et al. 1963). Puis, il y a eu post fixation au tetroxyde d'osmium (O₈O₄) à 1%, similairement tamponné pendant 6 h, à température ambiante. La déshydratation a été faite par passages successifs des fragments ainsi traités, dans une série de bains d'alcool éthylique à degré croissant puis au dioxyde de propylène. L'inclusion a été faite dans une résine Epoxy Spurr's très fluide (Spurr 1969). Des coupes transversales semi-fines de 1 à 2 μm ont été réalisées par suite à l'aide d'un ultra microtome, puis placées sur des lames porte-objet et colorées au bleu de toluidine à 0.5%. Puis, ces coupes ont été observées et photographiées à l'aide d'un microscope muni d'un appareil photo, Type Leica DM2500.

2.2.5. Dosages biochimiques

- Les concentrations en pigments chlorophylliens ont été déterminées à la fin des traitements selon la méthode de Gill (1970) en utilisant 0,1g de feuilles les plus exposées au soleil récolté sur cinq plants choisis aléatoirement par traitement. La densité optique est mesurée à 663 nm pour la chlorophylle (a) et à 645nm pour la chlorophylle (b). Les concentrations en chlorophylles (a) et (b), exprimées en mg. g⁻¹ MF sont calculées par les formules suivantes :

$$\text{Chl (a) (mmol/mgMF)} = [12,7DO(663) - 2,69(645)] * 0,2$$

$$\text{Chl (b) (mmol/mgMF)} = [22,9DO(645) - 4,68(663)] * 0,2$$

$$\text{Chl (a + b)} = [20,2DO(645) + 8,02DO(663)] * 0,2$$

- L'extraction et la purification de la proline ont été effectuées selon la méthode de Paquin and Le chasseur (1979). La densité optique est mesurée à 515 nm. La gamme étalon est établie par la proline pure. Le dosage des sucres solubles a été réalisé selon la technique décrite par Albouchi (1997), la gamme étalon est établie par le glucose pur. La DO est mesurée à la longueur d'onde 640nm.

2.3. Analyse statistique

Les données de chaque variable ont été soumises à une analyse de la variance à deux critères (population et traitement) en utilisant le logiciel SAS. Pour chaque population, la comparaison des moyennes des variables mesurées a été effectuée au seuil de 5% par le test de Tukey.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Effet de l'ombre sur la croissance des jeunes plants de chêne liège

3.1.1.1. Croissance en hauteur et en diamètre

L'analyse des données relatives à la croissance en hauteur de la tige principale et au diamètre au collet a montré un effet traitement et population significatif. Par comparaison au témoin, l'effet de l'ombre a induit une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de croissance relative en hauteur des tiges (TCRh) des plants de chêne liège avec toutefois une variabilité entre les deux populations. Les plants de Kef Rend (KR) se sont distingués par la plus forte croissance des tiges exprimée par un TCRh deux fois plus élevé que celui enregistré sous témoin (Fig. 2 A). L'ombre a induit un ralentissement du TCR au diamètre au collet qui a été cependant plus ou moins intense selon la population considérée. Ceci a été exprimé par une réduction évaluée par rapport aux témoins de l'ordre de 48% et 22% respectivement chez les plants BM et KR (Fig. 2 B).

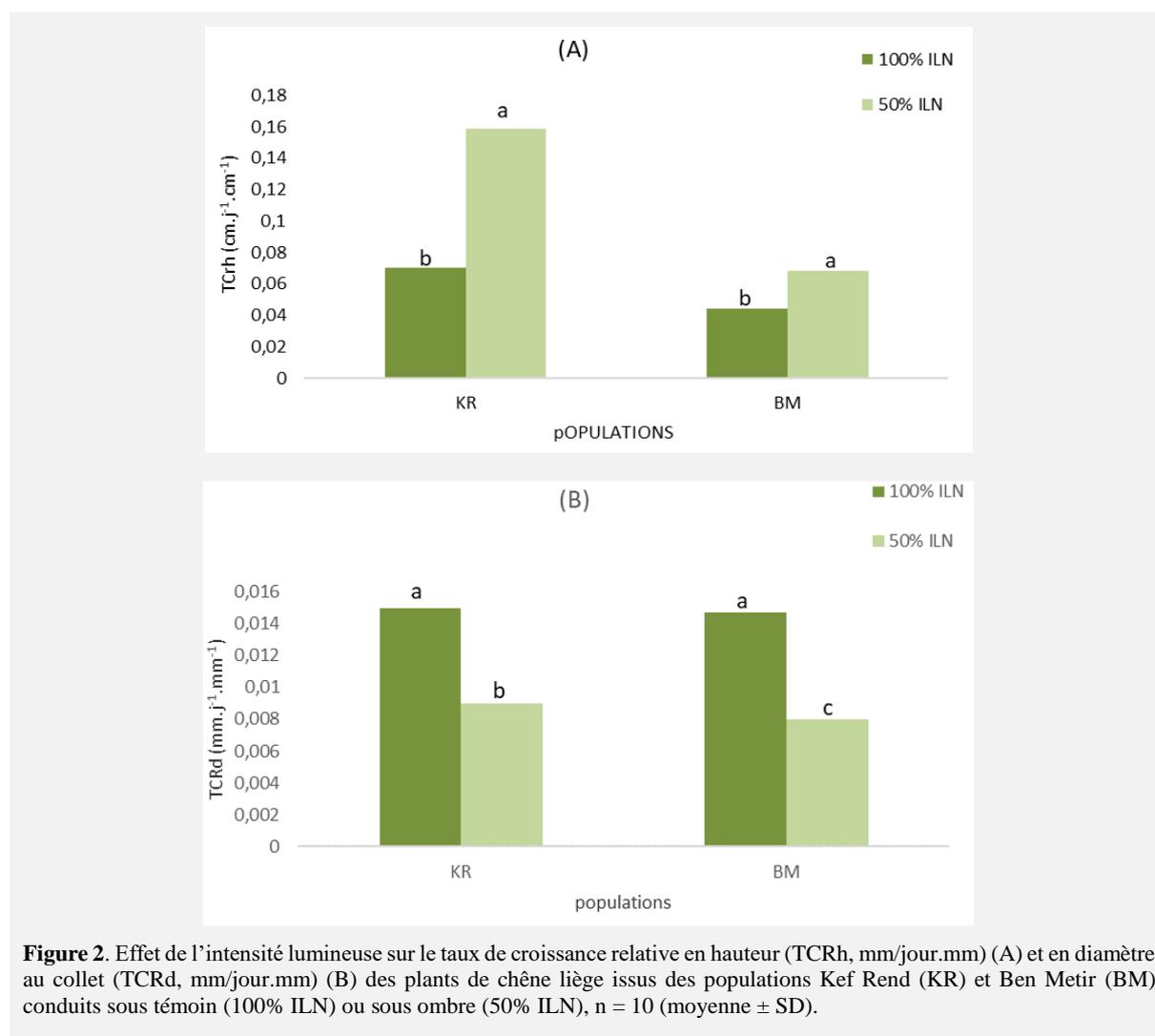


Figure 2. Effet de l'intensité lumineuse sur le taux de croissance relative en hauteur (TCRh, mm/jour.mm) (A) et en diamètre au collet (TCRd, mm/jour.mm) (B) des plants de chêne liège issus des populations Kef Rend (KR) et Ben Metir (BM) conduits sous témoin (100% ILN) ou sous ombre (50% ILN), n = 10 (moyenne ± SD).

3.1.1.2. Elongation foliaire

L'effet de l'ombre a stimulé significativement ($p < 0,05$) la croissance foliaire des plants de chêne liège. Cet effet a été perceptible à 20 jours de traitement sauf qu'il a été plus notable chez les plants BM (Fig. 3). En effet à cette date une augmentation de l'élongation foliaire évaluée par rapport au témoin de

l'ordre de 18% et 39% a été enregistrée respectivement chez KR et BM. A 60 jours de traitement, les plants BM montrent des feuilles d'une longueur moyenne de 46 mm contre 36 mm chez les plants KR.

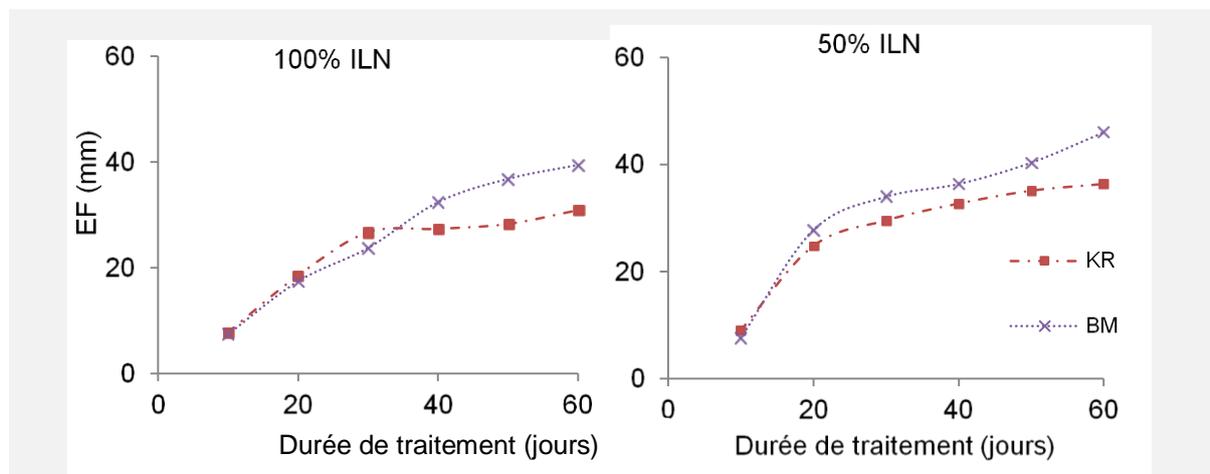


Figure 3. Effet de l'intensité lumineuse sur l'élongation foliaire des plants de chêne liège issus des populations de Kef Rend (KR), et Ben Metir (BM), témoin (100% ILN) ou sous ombre (50% ILN), n = 10 (moyenne \pm SD). Les lettres différentes indiquent une différence significative à ($p < 0,05$) selon le test de Tukey entre les traitements.

3.1.1.3. Surface spécifique foliaire et concentrations en chlorophylles

L'effet de l'ombre a induit une augmentation ($p < 0,05$) de la surface spécifique foliaire (SFS) des plants de chêne liège (Tableau 2). Les plants BM ont enregistré la plus forte augmentation chiffrée à 15% du témoin contre 9% chez KR. De plus, une augmentation des concentrations en chlorophylles a été enregistrée chez ces deux populations sous ce stress (Tableau 3).

3.1.1.4. Structure anatomique des feuilles

Sous ombre la structure des feuilles de plants de chêne liège a été modifiée. Les sections de feuilles chez les plants KR (Fig. 4A et 4B) ou BM (Fig. 4C et 4D) apparaissent rétrécies avec une épaisseur du mésophylle plus faible comparativement à celles du témoin conduit sous lumière naturelle.

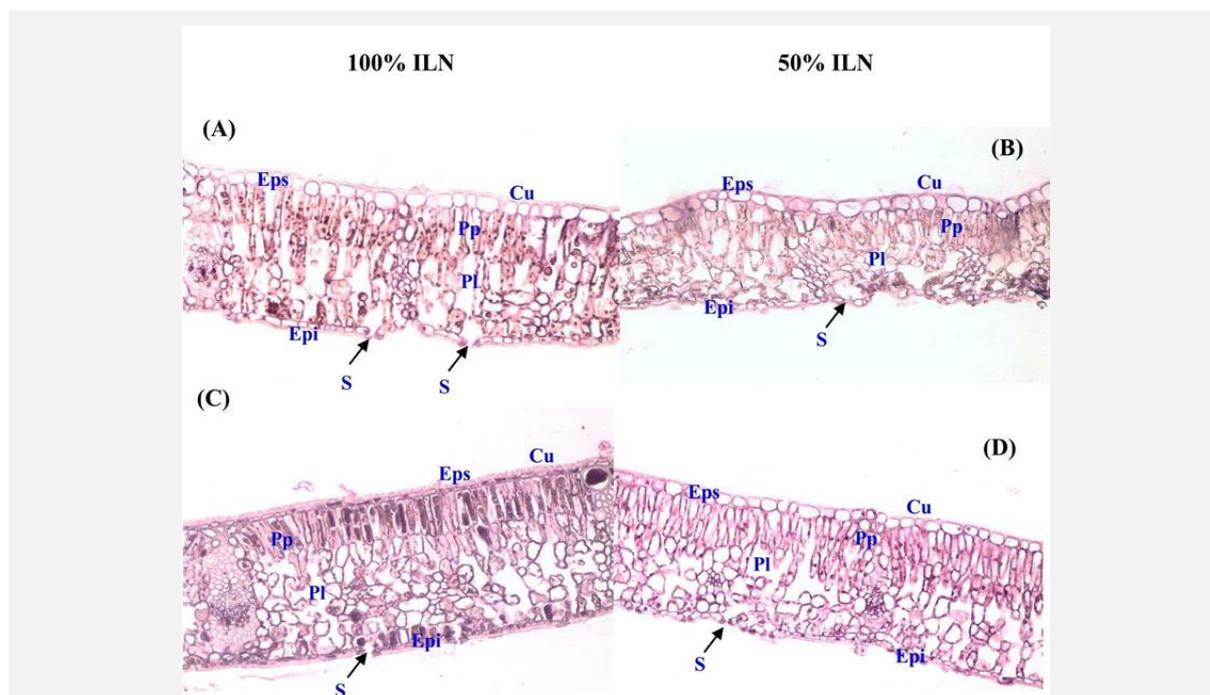


Figure 4. Effet de l'ombre sur l'anatomie des feuilles des plants de chêne liège : Plants conduits sous lumière naturelle (100% ILN) : Kef Rand (A), Beni Mtir (C) ; Plants conduits sous ombre (50% ILN) : Kef Rend (B), Beni Mtir (D), (G x 20), avec : Cuticule (Cu) ; Epiderme supérieur (Eps) ; Parenchyme palissadique (Pp) ; Parenchyme lacuneux (Pl) ; Epiderme inférieur (Epi) et Stomate (S).

3.1.2. Réponses face à l'effet du stress hydrique

3.1.2.1. Teneur relative en eau

Le stress hydrique induit par un arrêt de l'irrigation des jeunes plants de chêne liège conduit sous lumière naturelle ou sous ombre durant 15 jours a réduit significativement ($p < 0,05$) la teneur relative en eau (TRE). Cet effet a été dépendant de l'intensité lumineuse et de la population en question. Sous lumière naturelle (100% ILN), le stress hydrique a fortement réduit la (TRE) des plants KR qui a baissé de 51% du témoin. Cet effet a été moindre chez BM qui a enregistré une baisse de 42% de sa (TRE). D'autre part, l'ombre a atténué ($p < 0,05$) l'impact du stress hydrique subi par les plants de KR et BM à travers une baisse moindre de la TRE qui a été de 31% et 21% respectivement (Fig.5).

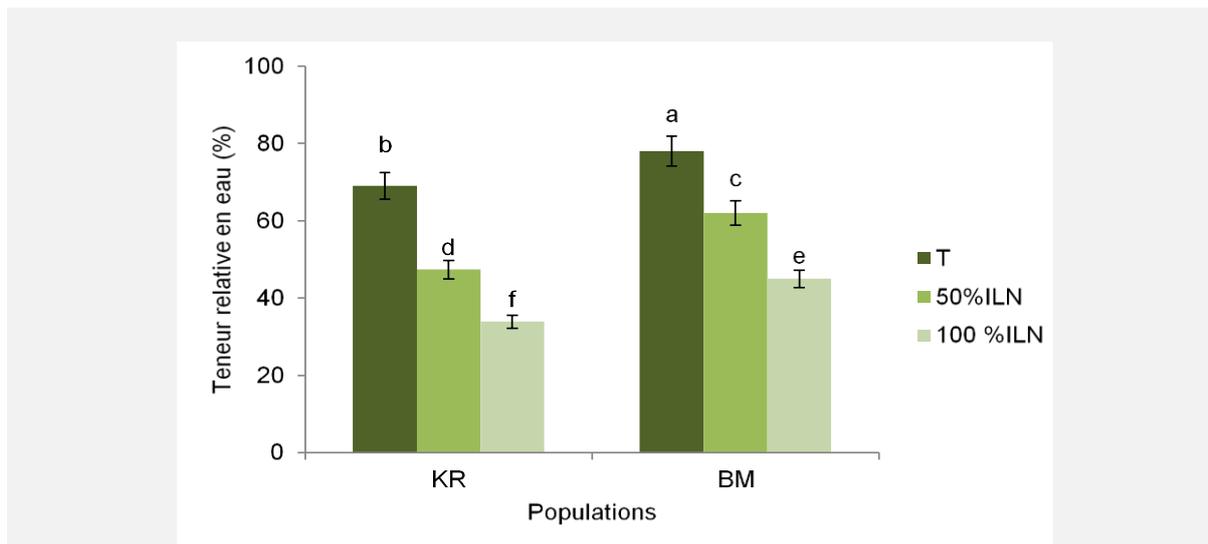


Figure 5. Effet du stress hydrique sur la teneur relative en eau de jeunes plants de chêne liège de Kef Rend (KR) et Ben Metir (BM), conduits sous lumière naturelle (100% ILN) ou sous ombre (50% ILN), comparé à un témoin absolu (T) conduit sous 100% ILN et irrigué à la capacité au champ, $n = 10$ (moyenne \pm SD). Les lettres différentes indiquent une différence significative à ($p < 0,05$) selon le test de Tukey entre les traitements.

3.1.2.2. Surface foliaire spécifique et matière sèche des feuilles

Le stress hydrique a réduit ($p < 0,05$) la surface foliaire spécifique (SFS) des plants de chêne liège conduits sous ombre ou lumière naturelle. Chez les plants KR ces réductions ont été de 11% sous lumière naturelle et 9% sous ombre. Les plants BM ont enregistré une baisse significative de la (SFS) uniquement sous ombre avec réduction de l'ordre de 14%. D'autre part, le déficit hydrique a réduit ($p < 0,05$) la masse sèche des feuilles des plants de KR et BM sous les deux régimes lumineux (Tableau 2). Cet effet a été beaucoup plus intense sous lumière naturelle avec une baisse respective de l'ordre de 31% et 28% chez ces deux espèces contre une baisse plus faible de l'ordre de 9% sous ombre (Tableau 2).

Tableau 2. Effet du stress hydrique sur la surface foliaire, le poids de la matière sèche et la surface foliaire spécifique (SFS) des plants de deux populations de chêne liège (KR et BM) conduits sous lumière naturelle (100% ILN) et sous ombre (50% ILN), avec T (100 % CC) et S (Stress hydrique), $n = 10$ (moyenne \pm SD).

Populations	Traitements	Surface foliaire (cm ²)		Poids de la matière sèche (g)		Surface foliaire spécifique cm ² .g ⁻¹	
		T	S	T	S	T	S
KR	100% ILN	10,22 \pm 0,74d	6,2 \pm 0,69	0,121 \pm 0,066a	0,083 \pm 0,006cd	84,46 \pm 1,51 c	74,69 \pm 1,38d
	50% ILN	12,56 \pm 1,08b	10,5 \pm 1,1cd	0,135 \pm 0,068a	0,123 \pm 0,007c	93,04 \pm 2,23b	85,37 \pm 1,04 c
	100% ILN	11,44 \pm 0,945bc	7,84 \pm 0,94e	0,125 \pm 0,091a	0,09 \pm 0,0091a	91,52 \pm 1,02b	87,11 \pm 1,55bc
BM	50% ILN	14,502 \pm 1,59a	11,31 \pm 1,07c	0,138 \pm 0,078b	0,126 \pm 0,011d	105,08 \pm 3,06a	89,68 \pm 2,02b

Pour chaque paramètre, les moyennes suivies de lettres distinctes présentent des différences significatives au seuil de 5 % (test de Tukey)

3.1.2.3. Proline, sucres totaux et concentrations en chlorophylles

Le stress hydrique a induit une augmentation significative ($p < 0,05$) des concentrations en proline et en sucres solubles dans les feuilles des plants des deux populations de chêne liège. Une plus forte accumulation en proline a été enregistrée chez les plants conduits sous lumière naturelle comparativement à ceux sous ombre. Les pourcentages d'augmentation calculés par rapport aux témoins ont été chez KR et BM respectivement de 48% et 45% sous lumière naturelle et 33% et 25% sous ombre. De plus, la comparaison des moyennes de la concentration en proline entre populations montre que quelles que soit les conditions de lumière, les plants de KR accumulent plus cet osmoticum que ceux de BM (Tableau 3). À l'instar de la proline, les sucres solubles se sont accumulés dans les feuilles de chêne sous l'effet du stress hydrique avec une concentration plus élevée sous lumière naturelle comparée à celle sous ombre. Les pourcentages d'augmentation ont été sous 100% LN de 38% et 33% contre 23% et 22% sous ombre et ce respectivement chez KR et BM. Ces résultats montrent également que les plants de KR accumulent sous l'effet de la contrainte hydrique plus de solutés organiques (proline et sucres solubles). D'autre part, le stress hydrique a inhibé la synthèse de la chlorophylle des plants de chêne liège vu la baisse significative ($p < 0,001$) des concentrations en chlorophylles Chl (a), Chl (b) et Chl (a+b). Notons que cet effet a été plus intense sous lumière naturelle. A l'échelle de la population, les plants de KR ont été plus affectés par le stress hydrique appliqué vu les baisses plus importantes en chlorophylle (a+b) qui ont été respectivement de 24% sous lumière naturelle et 15% sous ombre. Par contre ces réductions ont été moindres de l'ordre de 15% et 10% sous ces mêmes traitements chez les plants de BM.

Tableau 3. Effet du stress hydrique sur la concentration en proline foliaire, sucres solubles et en chlorophylles ((Chl a), (Chl b) et (Chl a+b)) des plants de deux populations de chêne liège (KR et BM) conduits sous lumière naturelle (100%ILN) et sous ombre (50%ILN), avec T (100 %CC) et S (Stress hydrique), n = 10 (moyenne \pm SD).

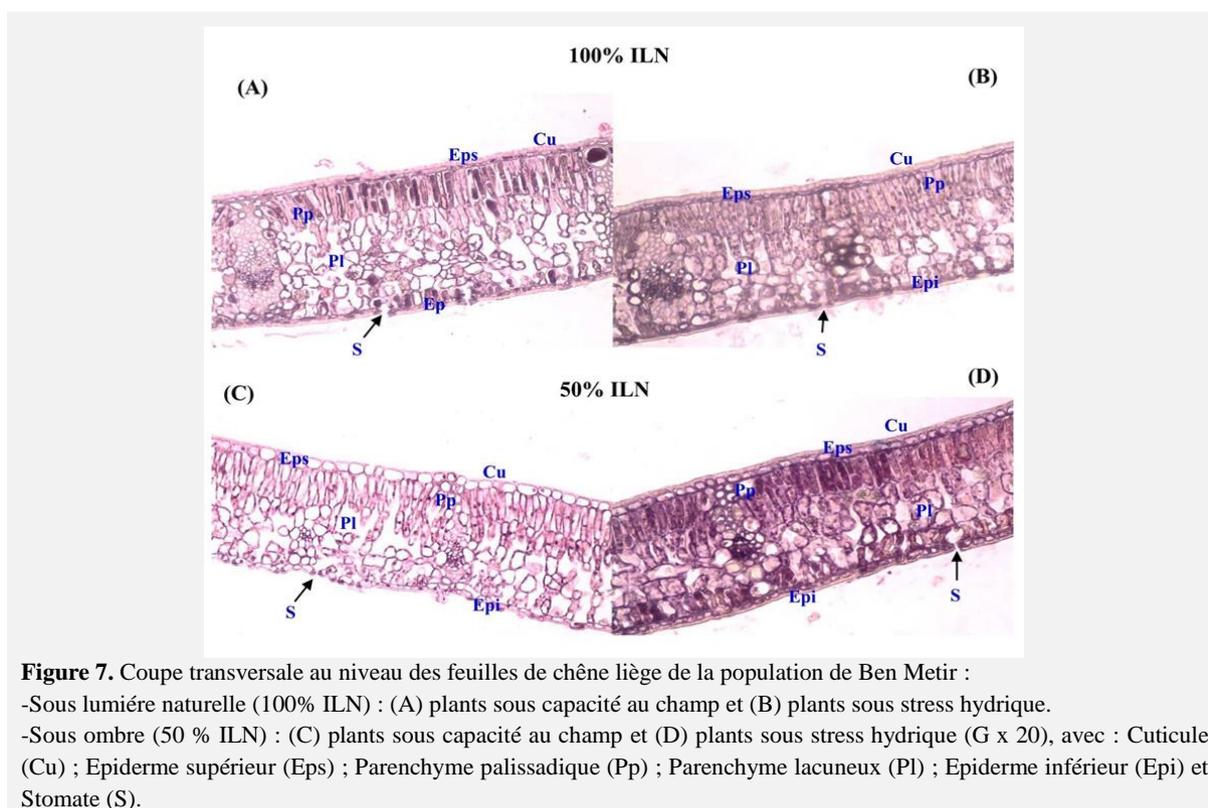
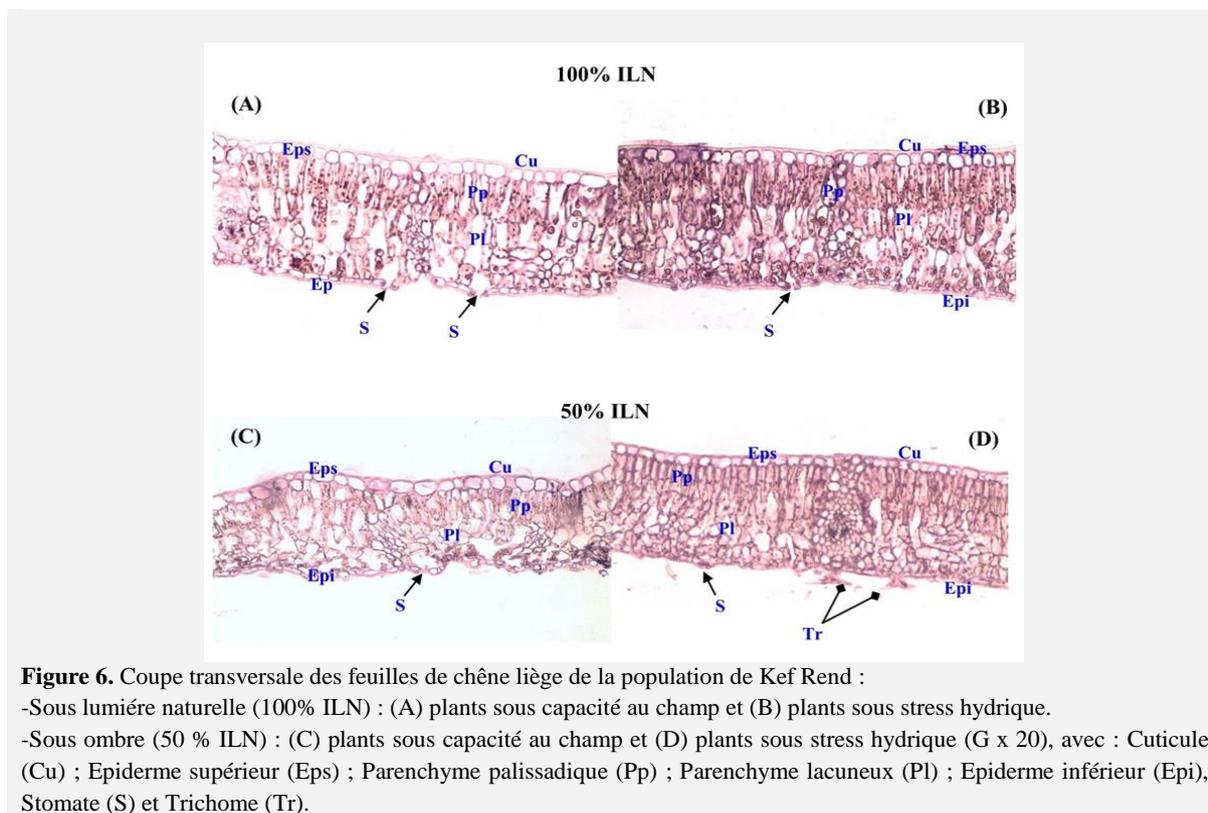
Populations	Traitements	Proline foliaire ($\mu\text{mol.mg}^{-1}\text{MS}$)		Sucres solubles ($\text{mg.g}^{-1}\text{MS}$)		Chlorophylles ($\text{mg.g}^{-1}\text{MS}$)					
		T	S	T	S	Chl(a)		Chl(b)		Chl(a+b)	
KR	100% ILN	0,024	0,046	0,068	0,109	12,810	10,094	4,874	3,435	17,684	13,529
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	0,001c	0,002a	0,004d	0,03a	1,002c	0,932d	0,32ab	0,231c	1,734 b	1,363 c	
	50% ILN	0,020	0,03	0,061	0,079	15,849	13,389	5,366	4,629	21,215	18,018
BM	100% ILN	0,018	0,033	0,064	0,095	12,790	10,313	4,539	3,323	16,113	13,636
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	0,004e	0,002b	0,001de	0,005b	0,91c	0,83d	0,33b	0,163c	1,251b	1,093c	
	50% ILN	0,015	0,02	0,058	0,074	14,328	12,998	5,126	4,558	19,454	17,556
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	
		0,001f	0,002d	0,004e	0,003c	1,02b	0,92c	0,45a	0,53b	1,392ab	1,582b

Pour chaque paramètre, les moyennes suivies de lettres distinctes présentent des différences significatives au seuil de 5 % (test de Tukey)

3.1.3. Effet du stress hydrique sur la structure anatomique des feuilles de chêne liège

Le manque de la disponibilité en eau et en lumière a imposé des changements dans la structure anatomique des feuilles de chêne liège. Sous l'effet du stress hydrique, les feuilles de KR sous lumière naturelle présentent des sections transversales plus épaisses comparativement au témoin sous capacité au champ (Figs 6A et 6B). La cuticule au niveau de la couche épidermique supérieure et inférieure paraît plus épaisse. Le mésophylle est plus dense avec un parenchyme palissadique présentant trois couches de cellules bien différenciées et accolées les unes aux autres avec et des espaces intercellulaires très réduits au niveau des cellules du parenchyme lacuneux. Sous l'effet combiné du stress hydrique et de l'ombre, les sections de feuilles de KR sont fortement épaissies comparativement à leur témoin (Figs 6C et 6D). Les cellules de l'épiderme supérieur perdent de leur volume alors que le mésophylle est très dense. Le parenchyme palissadique présente trois couches de cellules (au lieu de deux chez le témoin) qui sont bien différenciées et fortement accolées avec des espaces intercellulaires très réduits. Par ailleurs, la présence de trichomes est remarquée au niveau de l'épiderme inférieur. Chez les plants de

la population BM, le stress hydrique a induit un épaississement du limbe qui a été plus intense sous ombre (Figs. 7B et 7D). Les sections transversales de feuilles montrent une cuticule fortement développée au niveau de l'épiderme supérieur et inférieur. Elle est beaucoup plus épaisse que celle observée chez les feuilles de KR. Le mésophylle apparaît très dense et compact avec une structure différenciée et organisée des cellules du parenchyme palissadique et lacuneux. Les cellules au niveau de ces deux parenchymes sont fortement collées les unes aux autres avec des espaces intercellulaires fortement réduits.



3.2. Discussion

L'effet de l'ombre appliqué durant 90 jours a modifié la morphologie des jeunes plants de chêne liège (*Quercus suber* L.) d'une manière plus ou moins intense selon l'origine écologique de la population considérée. Ceci souligne encore une fois la large variabilité intra spécifique de *Quercus suber* face aux contraintes abiotiques du milieu (Dreyer et al. 2005 ; Pausas et al. 2006 ; Abdessamad et al. 2015). Cette différence de comportement serait liée à la diversité des conditions éco géographiques des lieux d'origine des deux populations testées. L'ombre a stimulé la croissance en hauteur des tiges en particulier chez les plants de la population KR. Cette réponse est considérée comme une adaptation souvent utilisée par les espèces végétales en quête de la lumière (Cornic 2014 ; Boncompagni 2016). Pareil comportement a été enregistré chez des plants de *Quercus petraea* (Chaar et al. 1997) dont la croissance en hauteur a été maximale sous faible intensité lumineuse. De même, les travaux de Kelly et al. (2010), ont montré une augmentation progressive de la hauteur sous un gradient croissant d'ombre chez *Spiraea alba* Du Roi et *Spiraea tomentosa* L. A l'opposé la croissance en diamètre au collet a été ralentie sous faible lumière où pareil comportement a été relevé chez *Quercus robur* L. (Giertych et al. 2015). Ces résultats supposent une augmentation du rapport hauteur sur diamètre au collet des plants de chêne liège mettant l'accent sur le déséquilibre induit par l'ombre entre la croissance en hauteur et l'accroissement radial des tiges (Mechergui and Pardos, 2016). D'autre part, l'ombre a accéléré l'élongation des feuilles mais de manière plus ou moins intense selon la population. En effet, les plants de BM ont montré la plus forte élongation foliaire donnant des feuilles de plus grande dimension comparativement à celle de KR. La modification de la dimension des feuilles serait un mécanisme d'adaptation développé par les plants de chêne liège afin d'accroître la surface de capture de la lumière (Thornley 1972 ; Bloom et al. 1985). Cette surface étant plus développée chez les plants de BM, reflèterait une meilleure adaptation à l'ombre. Par ailleurs, l'accroissement de la surface foliaire chez les plants de KR et BM a été accompagné par une augmentation de la surface spécifique foliaire (SFS) qui est considérée comme une adaptation morphologique commune à l'effet de l'ombre (Puértolas et al. 2008). Selon plusieurs auteurs, l'augmentation de cette variable traduirait une plus faible épaisseur des tissus foliaires (Mendes et al. 2001 ; Romano and Martins-Loução 2003 ; Gregoriou et al. 2007). Ce postulat a été confirmé au cours de cette étude car les sections transversales de feuilles des plants de KR ou BM sous ombre apparaissent de plus faible épaisseur. Ceci a été attribué chez ces deux populations au nombre plus réduit de couches cellulaires du parenchyme palissadique ou lacuneux comparativement aux témoins sous lumière naturelle. Pareilles modifications anatomiques ont été mentionnées sous conditions de déficit en lumière chez *Quercus suber* (Kwak et al. 2011) et *Physocarpus spp* (Zhang 2016). Cependant, les plants de BM semblent mieux supporter l'effet de l'ombre vu le maintien de la structure différenciée et organisée du mésophylle par comparaison aux plants de KR dont les cellules du parenchyme palissadique perdent leur structure typique en bâtonnet et apparaissent fortement désorganisées. D'autre part, sous ces conditions, les teneurs en chlorophylles ont augmenté chez les deux populations. Ce phénomène serait relié à une meilleure efficacité photochimique du PSII chez *Trifolium subterraneum* L. (Mauro et al. 2011). Ceci indiquerait une photo-acclimatation des feuilles de chêne liège à l'ombre dans le but de maximiser la capture de la lumière sous faible irradiation (Anderson et al. 1995 ; Viji et al. 1997).

Le stress hydrique, provoqué par un arrêt de l'irrigation durant 15 jours des plants de chêne liège conduits sous lumière naturelle ou ombre, a modifié leur morpho-physiologie ainsi que la structure anatomique de leurs feuilles. Toutefois, cet effet a été variable selon la population considérée. Une déshydratation des plants a été mise en évidence à travers une baisse de la teneur relative en eau (TRE) des plants de chêne liège. Cette réduction a été plus importante chez les plants de KR sous lumière naturelle comparativement à celle de BM, témoignant d'une plus forte susceptibilité des plants de KR au stress hydrique. En effet, la teneur relative en eau constitue une estimation de la capacité à maintenir un état d'hydratation donné ou à supporter une certaine déshydratation des tissus (Larbi 2004 ; Arndt et al. 2015). D'autre part, nos résultats ont montré que l'ombre a atténué la déshydratation subie par les plants de KR à travers une réduction de plus faible intensité de leur (TRE). Ce meilleur état hydrique a induit une baisse moindre de la matière sèche des feuilles comparativement à celle sous lumière naturelle en particulier chez les plants KR. Ces résultats semblent prouver un apport positif de l'ombre à un stade juvénile de développement sur les espèces vulnérables à la déshydratation (McGuire et al. 2001 ; Samuelson and Stokes 2012). D'autre part, le stress hydrique en agissant sur la fonctionnalité de la feuille (Albouchi et al. 1997 ; Wang et al. 2016) pourrait provoquer des mécanismes de tolérance qui sont souvent reliés à une adaptation morphologique et physiologique des feuilles. Sous l'effet du déficit hydrique, les plants de KR ou BM conduits sous les deux régimes lumineux, ont développé

comparativement aux témoins sous arrosage optimal une plus faible surface foliaire spécifique (SFS). Divers auteurs estiment que la baisse de la SFS est reliée à un épaississement de la feuille attribuant à cette dernière une rigidité lui permettant de flétrir moins facilement sous des conditions de sécheresse (Wellstein et al. 2017) ainsi qu'une meilleure efficacité de l'utilisation de l'eau (Ackerly et al. 2000 ; Wright et al. 2004). Dans ce contexte, l'observation des sections transversales des feuilles de chêne liège conduites sous stress hydrique ont montré un épaississement des feuilles aussi bien chez KR que BM. Nos résultats ont montré par ailleurs une baisse plus importante de la (SFS) chez les plants BM conduites sous la double contrainte ombre - stress hydrique par comparaison aux témoins sous ombre. Cette modification a été traduite par un épaississement des sections de feuilles plus notable que celui observé chez les plants de KR. Ceci serait attribué aussi bien à la structure fortement organisée et très dense des cellules du mésophylle, qu'au fort épaississement enregistré de la cuticule aussi bien au niveau de l'épiderme supérieur qu'inférieur. Ces modifications semblent témoigner chez les plants BM, d'une meilleure adaptation aux conditions du stress hydrique appliqué. En effet la cuticule qui est riche en lipides, constitue une barrière contre la perte de vapeur d'eau dans la feuille et assure un supplément à l'action des stomates dans la régulation du passage de l'eau entre la plante et son environnement (Pallardy and Kozlowski 1980 ; Provost et al. 2013). Par ailleurs, une baisse de la synthèse de la chlorophylle a été enregistrée chez les plants de chêne liège. Notons que ces réductions ont été de moindre intensité sous le stress combiné stress hydrique - ombre. Ceci serait relié à l'effet de l'ombre qui en réduisant l'impact de la sécheresse aurait protégé l'appareil photosynthétique des plants de chêne liège (Quero et al. 2006). D'autre part, les plants de KR ont subi une plus forte réduction de leur concentration en chlorophylles dénotant d'une altération plus forte de leur synthèse chlorophyllienne qui serait attribuée à une sensibilité au stress hydrique. En réponse à la faible disponibilité en eau, une augmentation des concentrations en proline et en sucres totaux a été enregistrée chez les plants de chêne liège. La stimulation de la synthèse d'une gamme de solutés organiques est une adaptation au déficit hydrique développée par plusieurs espèces du genre *Quercus* afin de préserver l'intégrité de la structure de leurs membranes et maintenir leur turgescence cellulaire (Zerrad2006 ; Cotrozzi et al. 2016 ; Deligoz et al. 2016). Cependant, nos résultats ont montré chez les deux populations une plus forte accumulation de ces osmoticum sous lumière naturelle témoignant d'une plus forte déshydratation nécessitant une osmorégulation plus élevée. Par ailleurs, les plants de KR ont accumulé plus de solutés organiques que les plants de BM. Ceci pourrait traduire chez les plants KR une plus forte vulnérabilité au stress hydrique appliqué nécessitant un besoin plus élevé en osmolytes pour le maintien de leur turgescence.

4. Conclusion

Ce travail a porté sur une étude comparative des réponses à l'échelle de la morpho-physiologie et la structure anatomiques des feuilles de jeunes plants de deux populations de chêne liège (*Quercus suber*) issus de bioclimats différents et soumis à des conditions de déficit en lumière et en eau. Sous l'effet de l'ombre, les plants de chêne liège ont développé des adaptations morphologiques à travers une stimulation de la croissance en hauteur des tiges et l'élongation des feuilles. Les feuilles sont devenues moins épaisses mais à plus forte teneur en chlorophylles. Néanmoins, les plants de la population BM semblent mieux supporter cette contrainte vu leur surface de capture de lumière plus élevée ainsi que le maintien d'une structure anatomique organisée. D'autre part, l'impact du stress hydrique sur la teneur relative en eau ainsi que la synthèse de la chlorophylle a été plus fort sous lumière naturelle. Les plants KR ont été plus affectés dénotant d'une plus forte vulnérabilité au stress appliqué. Les conditions d'ombre semblent améliorer, ou ne pas aggraver, l'impact de la sécheresse sur les semis de chêne. En réponse à la contrainte hydrique des mécanismes d'adaptation ont été mis en place via une osmorégulation ainsi qu'un épaississement des feuilles. Les feuilles de BM se sont distinguées par la présence d'une cuticule fortement développée contribuant à limiter les pertes de l'eau sous stress hydrique. Ces résultats ont montré à un stade juvénile de croissance la capacité des jeunes plants de chêne liège à développer des réponses adaptatives en réponse à l'ombre ou à son effet combiné avec le stress hydrique. Les jeunes plants de la population Beni Mtir (BM) semblent disposer de mécanismes d'adaptation plus efficaces face à ces contraintes leur permettant de mieux supporter l'effet du stress hydrique ainsi que le manque de la lumière induit par le couvert végétal.

5. Références

Abdessamad A, Dhib I, Baraket G, Ksontini M, Salah Hannachi A (2015) Phenological variability in different populations Cork oak (*Quercus suber* L.) in Tunisia. Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT) 9 (1 Ver. I): 61-70.

- Abassi M, Albouchi A, Ben Mansoura A, Béjaoui Z, Rejeb M N, Mougou A (2004)** Tolérance de divers clones de peuplier à la salinité. *Annales de l'INRGREF*.6: 17-34.
- Ackerly DD, Dudley SA, Sultan SE, Schmitt J, Coleman JS, Linder CR, Sandquist DR, Geber MA, Evans AS, Dawson TE, Lechowicz MJ (2000)** The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions. *Bioscience* 50: 979-995.
- Albouchi A, Ghrir R, El Aouni MH (1997)** Endurcissement à la sécheresse et accumulation de glucides solubles et d'acides aminés libres dans les phyllodes d'*Acacia cyanophylla* Lindl. *Ann. Sci. For.* 54: 155-168.
- Albouchi A (1997)** Effets du preconditionnement à la carence en eau sur certaines manifestations de l'endurcissement à la sécheresse chez *Acacia cyanophylla* Lindl. : Croissance, comportement hydrique et accumulation active de solutés, Thèse de doctorat, Université de Tunis II.
- Anderson JM, Soon Chow W, Park YI (1995)** The grand design of photosynthesis: acclimation of the photo-synthetic apparatus to environmental cues. *Photosynth. Res.*46:129-139.
- Aranda I, Castro L, Pardos M, Gil L, Pardos JA (2005)** Effects of the inter action between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak *Quercus suber* L. seedlings. *Forest Ecology and Management*210:117-129.
- Arndt SK, Irawan A, Sanders GJ (2015)** Apoplastic water fraction and rehydration techniques introduce significant errors in measurements of relative water content and osmotic potential in plant leaves. *Physiologia Plantarum*, 155(4): 355-368.
- Beadle CL (1993)** Growth analysis. In: Hall DO, Scurelock JMO, Bolhàr-Nordenkampf HR, Leegood RC, Long SP, editors. *Photosynthesis and Production in a Changing Environment: a Field and Laboratory Manual*. Chapman & Hall, London, 36-46.
- Björkman O (1981)** Response to different quantum flux. In *Physiological plant Ecology I; response to the physical environment*. Encyclopedia of Plant physiology. OL Lange, PS Nobel, CB Osmond, H Ziegler eds. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 57-107.
- Bloom AJ, Chapin III ES, Mooney HA (1985)** Resource limitation in plants-an economic analogy. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 16:363-392.
- Boncompagni E (2016)** Développement végétal et perception lumineuse, EB -Cours BDV, Université Nice Sophia Antipolis-INRA-CNRS, 19pp.
- Bouchaour-Djabeur S, Benabdeli K, Bejamaa ML, Stiti B (2011)** Depredation of the cork oak acorns by insects and possibilities of germination and growth, *Geo-Eco-Trop*, 35 : 69-80.
- Chaar H, Colin F, Collet C (1997)** Effects of environmental factors on the shoot development of *Quercus petraea* seedlings: a methodological approach. *Forest Ecol. Manage* 97: 119-131.
- Cornic G (2014)** Lumière version 5-6 : Adaptation et acclimatation des plantes à l'éclaircissement de croissance, 78pp.
- Daas-ghrib C (2009)** Exigences comparées en lumière chez le chêne liège (*Quercus suber*) et le chêne zeen (*Quercus canariensis*) en forêt méditerranéenne. Cas de la Tunisie. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de Tunis.
- De Ronde JA, Laurie RN, Caetano T, Gray Ling MM, Kerepesi I (2004)** Comparative study between transgenic and non-transgenic soybean lines proved transgenic lines to be more drought tolerant. *Euphytica* 138:123-132.
- Deligoz A, Gur M (2015)** Morphological, physiological and biochemical responses to drought stress of Stone pine (*Pinus pinea* L.) seedlings. *Acta Physiol Plant* 37:243 DOI 10.1007/s11738-015-1998-1.
- Deligoz A, Bayar E, Yazici (2016)** Responses of growth, water relations and compatible solutes contents to repeated drought stress in *Cedrus libani*. *Fresenius Environmental Bulletin* 25 (9): 3760-3767.
- Direction Générale des Forêts (1995)** Résultats du premier inventaire forestier national en Tunisie.
- Dreyer, Collet C, Montpied P, Sinoquet H (2005)** Caractérisation de la tolérance à l'ombrage des jeunes semis de hêtre et comparaison avec les essences associées. *Rev. For. Fr.*, 57(2):175-188.
- FAO (2016)** State of the worldstate of the world's forests, forests and agriculture: land-use challenges and opportunities, Rome, 1-126pp.
- Giertych MJ, Karolewski P, Oleksyn J (2015)** Carbon allocation in seedlings of deciduous tree species depends on their shade tolerance. *Acta Physiol Plant*, 37(216):1-15, DOI 10.1007/s11738-015-1965-x.

- Gregoriou K, Pontikis K, Vemmos S (2007)** Effects of reduced irradiance on leaf morphology, photosynthetic capacity, and fruit yield in olive (*Olea europaea* L.). *Photosynthetica* 45(2):172–181. doi: [10.1007/s11099-007-0029-x](https://doi.org/10.1007/s11099-007-0029-x).
- Hae Naem Kim, Hye Young Jin, MyeongJaKwak, InkyinKhaine, Ha Na You, Tae Yoon Lee, Tai HyeonAhn and Su Young Woo (2017)** Why does *Quercus suber* species decline in Mediterranean areas. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, Review article, 1-5.
- Hastwell GT, Facelli JM (2003)** Differing effects of shade-induced facilitation on growth and survival during the establishment of a chenopod shrub. *J. Ecol.* 91: 941-950.
- Hernández EI, Vilagrosa A, Luis VC, Llorca M, Chirino E, Vallejo VR (2009)** Root hydraulic conductance, gas exchange and leaf water potential in seedlings of *Pistacia lentiscus* L. and *Quercus suber* L. grown under different fertilization and light regimes. *Environmental and Experimental Botany* 67:269-276. <https://doi.org/10.1111/ppl.12380>.
- Huihui Zhang, Haixiu Zhong, Jifeng Wang, Xin Sui and Nan Xu (2016)** Adaptive changes in chlorophyll content and photosynthetic features to low light in *Physocarpus amurensis* Maxim and *Physocarpus opulifolius* “Diabolo”. *PeerJ* 4:e2125; DOI 10.7717/peerj.2125.
- Kanouni RM (2013)** Adaptation du chêne liège (*Quercus suber* L.) aux conditions extrêmes de température, Thèse de Doctorat, UNIVERSITE CONSTANTINE 1, Algérie, 159pp.
- Kelly MS, Sally SW, Michael ND, Michael VM (2010)** Light Exposure and Shade Effects on Growth, Flowering, and Leaf Morphology of *Spiraea alba* Du Roi and *Spiraea tomentosa* L. *Hortscience* 45(12):1912-1916.
- KOICA (Korea International Cooperation Agency) (2011)** Analysis of cork oak forest degradation causes and involvement of local population for sustainable development. Seoul: KOICA. University of Seoul 59-100.
- Ksontini M (1996)** Etude ecophysiologique des réponses à la contrainte hydrique du chêne liège (*Quercus suber*) dans le Nord-Tunisie: comparaison avec le chêne Kermès (*Q. coccifera*) et le chêne zeen (*Q. faginea*) Thèse université Paris XII Val De Marne, 157 p.
- Ksontini M, Louguet P, Laffray D, Rejeb MN (1998)** Comparaison des effets de la contrainte hydrique sur la croissance, la conductance stomatique et la photosynthèse de jeunes plants de chênes méditerranéens (*Quercus suber*, *Q. faginea*, *Q. coccifera*) en Tunisie. *Annales des sciences forestières, INRA/EDP Sciences* 55 (4) :477-495.
- Kwak MJ, Sun Mi Je, Hyo Cheng Cheng , Se MyeongSeo , Jeong Ho Park, SaengGeulBaek , InkyinKhaine , Taeyoon Lee , Jihwi Jang ID , Yang Li , Haenaem Kim, Jong Kyu Lee, Jieun Kim and Su Young Woo (2018)** Night Light-Adaptation Strategies for Photosynthetic Apparatus in Yellow-Poplar (*Liriodendron tulipifera* L.) Exposed to Artificial Night Lighting. *Forests* 9: 74; doi:10.3390/f9020074.
- Kwak M J, Seong Han Lee, Su Young W (2011)** Growth and anatomical characteristics of different water and light intensities on cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology* 10(53):10964-10979. DOI: 10.5897/AJB11.2846. ISSN 1684–5315.
- Larbi A (2004)** Relative water content (RWC) and leaf senescence as screening tools for drought tolerance in wheat In Cantero-Martinez C (ed.) *Mediterranean rainfed agriculture: Strategies for sustainability*, Zaragoza: CIHEAM, options Méditerranéennes: Serie A. Séminaires Méditerranéennes 60:193-196.
- Le Houérou HN (1980)** L’impact de l’homme et de ses animaux sur la forêt méditerranéenne. *Forêt Médit* 2 : 46-81.
- Lorenzo C, Damiano R, Elisa P, Marco L, Rossano M, Cristina N, Lucia G, Giacomo L (2016)** Variations in physiological and biochemical traits of oak seedlings grown under drought and ozone stress. *Physiol Plant* 6;157(1):69-84.
- Mauro RP, Occhipinti A, Longo AMG, Mauromicale G (2011)** Effects of shading on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence and photosynthesis of subterranean clover. *J. Agronomy & Crop Science* 197: 57-66, doi:10.1111/j.1439-037X.2010.00436.x.
- McGuire D, Garavan TN, O'Donnell D, Murphy C (2001)** Continuing Professional Development in the Irish Legal Profession: An Exploratory Study. *Continuing Professional Development*, 4(2):21-46.
- Mechergui T, Pardos M (2016)** Impact of moderate drought and shading on morphological traits of *Quercus suber* L. and *Quercus canariensis* Willd seedlings. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)* 9(9): 37-46.

- Medrano H, Escalona JM, Bota J, Gulías J, Flexas J (2002)** Regulation of photosynthesis of C₃ plants in response to progressive drought: the stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany* 89(7/15):895-905, <https://doi.org/10.1093/aob/mcf079>.
- Mendes R, Quinta R, Nunes ML (2001)** Changes in baseline levels of nucleotides during ice storage of fish and crustaceans from the Portuguese coast. *European Food Research and Technology* 212(2):141-146.
- Ministère des Affaires Locales et de l'Environnement (M.A.L.E.) (2016)** Deuxième Rapport Biennal de la Tunisie, Convention Cadre des Nations Unies Sur les Changements Climatiques 166 pp.
- Oubrahim H (2015)** Estimation et cartographie du stock du carbone dans l'écosystème de *Quercus suber* de la Mamora Occidentale (Cantons A et B) et estimation de son stock d'éléments nutritifs. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V, Maroc, 202pp.
- PIF (2016)** Programme d'investissement forestier en Tunisie, Rapport PIF 2016, 69pp.
- Pallardy SG, Kozłowski TT (1980)** Cuticle development in the stomatal region of *Populus* clones. *New Phytol.* 85: 363-368.
- Paquin R, Lechasseur P (1979)** Observation sur une méthode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *J. Can. Bot.* 57 1851-1854.
- Passarinho J, Lamosa P, Baeta JP, Santos H, Candido P (2006)** Annual changes in the concentration of minerals and organic compounds of *Quercus suber* leaves. *Physiol Plant* 127:100-110. doi: 10.1111/j.1399-3054.2006.00655.x.
- Pausas JG, Ribeiro E, Dias SG, Pons J, Beseler C (2006)** Regeneration of a marginal *Quercus suber* forest in the eastern Iberian Peninsula. *Journal of Vegetation Science* 17:729-738.
- Provost GL, Domergue F, Lalanne C, Campos PR, Grosbois AG, Bert D, Meredieu C, Danjon F, Plomion C, Gion J (2013)** Soil water stress affects both cuticular wax content and cuticle-related gene expression in young saplings of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait). *BMC Plant Biology* 13: 95.
- Puértolas J, Pardos M, Jiménez MD, Aranda I, Pardos JA (2008)** Interactive responses of *Quercus suber* L. seedlings to light and mild water stress: effects on morphology and gas exchange traits. *Ann. For. Sci.* 65: 611.
- Quero JL, Villar R, Maraño T, Zamora R (2006)** Interactions of drought and shade effects on seedlings of four *Quercus* species : physiological and structural leaf responses. *New Phytologist* 170: 819-834.
- Romano A, Martins-Loucao M (2003)** Strategies to improve rooting and acclimatization of cork Oak. *Acta Hort* 616:275-278.
- Samuelson Lisa J, Stokes Tom A (2012)** Leaf Physiological and Morphological Responses to Shade in Grass-Stage Seedlings and Young Trees of Longleaf Pine. *Forests* 3:684-699; doi:10.3390/f3030684.
- Selmi K (2006)** Use of the data of the national forest inventory for the monitoring and the management of cork oak forest in Tunisia, *Annales de l'INRGRF*, 9 : 21-30.
- Silva JS, Catry F (2006)** Forest fires in cork oak (*Quercus suber* L.) stands in Portugal. *International Journal of Environmental Studies* 63/3:235-257.
- Spurr AR (1969)** A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 26:31-43.
- Viji MM, Thangaraj M, Jayapragasam M (1997)** Effects of low light on photosynthetic pigments, photochemical efficiency and Hill reaction in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Agron. Crop Sci.* 178:193-196.
- Wang R, Gao M, Wang S, Ji S, Meng Y, Zhou Z (2016)** Carbon allocation, osmotic adjustment, antioxidant capacity and growth in cotton under long-term soil drought during flowering and boll-forming period. *Plant Physiol. Biochem.* 107:137-146. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.035>.
- Wellstein C, Poschod P, Gohlke A, Chelli S, Campetella G, Rosbakh S (2017)** Effects of extreme drought on specific leaf area of grassland species: a meta-analysis of experimental studies in temperate and sub-Mediterranean systems. *Glob. Change Biol.* 23:2473-2481. doi: 10.1111/gcb.13662.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, Ackerly DD, Baruch Z, Bongers F, Cavender-Bares J, Chapin T, Cornelissen JHC, Diemer M, Flexas J, Garnier Eric, Groom PK, Gulias J, Hikosaka K, Lamont BB, Lee T, Lee W, Lusk C, Midgley JJ, Navas ML, Niinemets U, Oleksyn J, Osada**

- N, Poorter H, Poot P, Prior L, Pyankov VI, Roumet C, Thomas SC, Tjoelker MG, Veneklaas EJ, Villar R (2004)** The world wide leaf economics spectrum. *Nature* 428 : 821-827.
- Zerrad W, Hillali S, Mataoui B, EL Antri S, Hmyene A (2006)** Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. *Biochimie, Substances naturelles et environnement"*. Congrès. International de biochimie. Agadir.
- Zine EL abidine A, Bouderrah M, Bekkour A, Lamhamedi MS, Abbas Y (2016)** Croissance et développement des plants de deux provenances de chêne-liège produits en pépinière dans des conteneurs de différentes profondeurs, forêt méditerranéenne t. XXXVII 2:137-150.