





**Allocation du carbone dans le cycle annuel de dormance-croissance pour prédire  
l'acclimatation au froid chez les conifères**

**par Julie LALOUER**

**Mémoire présenté à l'Université du Québec à Chicoutimi en vue de l'obtention du grade de  
Maîtrise ès sciences (M. Sc.) en Ressources Renouvelables**

Québec, Canada

© Julie Lalouer, 2026

## RÉSUMÉ

Avec les changements climatiques actuels, incluant une augmentation des températures et des changements de régimes de précipitations, la capacité des forêts boréales à se maintenir de manière durable est compromise. Afin de prédire les réponses de la forêt à ces changements, il est important de comprendre les mécanismes physiologiques de l'acclimatation à la sécheresse et au froid des arbres, deux mécanismes impliquant la dessiccation des tissus. Le déficit hydrique ainsi que la résistance au froid impliquent tous les deux, une augmentation de la concentration en sucres modifiant l'osmolalité des tissus afin de résister au stress. Le présent projet visait à étudier les effets d'une augmentation de température et de stress hydrique, appliqués durant l'été, sur plusieurs processus physiologiques dont la résistance au froid durant l'hiver, l'osmolalité cellulaire et la concentration en glucides non-structuraux chez l'épinette noire (*Picea mariana*) et le sapin baumier (*Abies balsamea*). Les données ont été récoltées durant deux hivers consécutifs, entre septembre et mai, selon une fréquence d'échantillonnage d'environ un mois et demi. Les mesures ont inclus des indices de résistance au froid déterminés de deux façons, la température létale de 50% des cellules (LT<sub>50</sub>) et le pourcentage de lyse maximale. De plus, des paramètres physiologiques ont été déterminés dont la concentration en glucides non structuraux et en amidon, l'osmolalité et le contenu en eau des aiguilles des espèces étudiées. Chez ces deux conifères, la baisse de la LT<sub>50</sub> durant la première partie de l'hiver indique l'augmentation de la résistance au froid, un processus connu sous le nom d'acclimatation au froid. Cette période s'accompagne d'une diminution de la concentration en amidon qui se dégrade en glucose, fructose et raffinose, entraînant une augmentation de leurs concentrations, tandis que le processus inverse est observé durant la désacclimatation. Le contenu en eau a peu diminué au cours de l'hiver tandis que l'osmolalité a présenté des variations intra-annuelles. Les traitements de température et de précipitations ont globalement montré des effets limités sur les paramètres physiologiques mesurés. Cependant, des températures estivales plus chaudes ont été associées à une résistance au froid, à un contenu en eau et à une concentration en saccharose plus faibles ainsi qu'à une concentration en fructose plus élevée que le traitement ambiant. Le stress hydrique estival a été associé à une résistance au froid plus élevée et à une concentration en saccharose plus faible. L'augmentation de la résistance au froid, comme en témoigne la diminution de la lyse maximale des aiguilles des espèces étudiées s'explique par la diminution de la température de l'air et l'augmentation du couvert de neige. Elle est également associée à des variations physiologiques telles que l'augmentation des concentrations en fructose et en raffinose, composés possédant des propriétés cryoprotectrices. L'augmentation de la résistance au froid s'accompagne également à d'une diminution de l'osmolalité ainsi qu'une augmentation du contenu en eau, mais ces résultats demeurent contre-intuitifs et contrastent entre les années étudiées. Cette étude a donc permis de déterminer que les changements climatiques estivaux semblent exercer des effets limités sur la physiologie hivernale des aiguilles de l'épinette noire et du sapin baumier. Il serait ainsi pertinent d'étudier les effets des changements climatiques hivernaux tels que l'augmentation des températures ou la diminution du couvert de neige sur la physiologie durant cette période.

## TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ .....	ii
TABLE DES MATIÈRES .....	iii
LISTE DES TABLEAUX .....	v
LISTE DES FIGURES .....	vi
LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES SIGLES .....	viii
DÉDICACE .....	ix
REMERCIEMENTS .....	x
INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE 1 .....	9
MATERIEL ET MÉTHODES .....	9
1.1 Site de l'étude .....	9
1.2 Echantillonnage et analyse .....	12
1.2.1 Détermination du contenu en eau et de l'osmolalité .....	12
1.2.2 Mesure de la concentration en sucres et en amidon .....	13
1.2.3 Détermination de la résistance au froid .....	16
1.3 Analyse statistique .....	18
CHAPITRE 2 .....	20
RÉSULTATS .....	20
2.1 Température léthale (LT <sub>50</sub> ) et pourcentage de lyse maximale .....	20
2.2 Osmolalité et déficit en eau .....	23
2.3 Concentration des glucides non-structuraux .....	25
2.4 Relations entre les variables physiologiques et les variables environnementales .....	28
2.5 Modèle explicatif de la résistance au froid par la lyse maximale .....	30
CHAPITRE 3 .....	35
DISCUSSION .....	35
3.1 Tendances temporelles .....	35
3.1.1 Résistance au froid .....	35
3.1.2 Osmolalité et déficit en eau .....	37
3.1.3 Concentration en glucides non-structuraux .....	39
3.2 Influence des essences et des traitements sur les variables physiologiques mesurées .....	41

3.3 Influence des facteurs environnementales et physiologiques sur le pourcentage de lyse.....	43
CONCLUSION .....	46
LISTE DE RÉFÉRENCES.....	48

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Attribution des acronymes des traitements de précipitations et de températures. ....	10
Tableau 2 Analyses de modèles mixtes montrant les effets de la date représenté en jour julien (Day of the year DOY), des essences, du traitement de température et du traitement de précipitation sur la température létale de 50% des cellules (LT <sub>50</sub> , °C), sur la lyse maximale (%), sur l'osmolalité (mOsm/kg H <sub>2</sub> O), le contenu en eau (%), le glucose (m·g dw <sup>-1</sup> ), le fructose (mg·g dw <sup>-1</sup> ), le saccharose (mg·g dw <sup>-1</sup> ), le raffinose (mg·g dw <sup>-1</sup> ) et le pinitol (mg·g dw <sup>-1</sup> ). Les tirets représentent les interactions qui ont été retirées des modèles afin de les améliorer. Les termes significatifs sont soulignés en caractères gras. ....	22
Tableau 3 Analyses de la variance d'un modèle linéaire mixte montrant les effets de l'osmolalité, du contenu en eau, des concentrations en fructose et en raffinose, des variables environnementales tels que la température moyenne (T <sub>moyenne</sub> ) et le couvert de neige (Neige), de l'essence et des traitements sur la lyse maximale. Les termes significatifs sont soulignés en caractères gras. ....	31
Tableau 4 Synthèse des effets des essences et des traitements de température et de précipitation sur les variables physiologiques. Les cases présentées en rouge présentent un estimé supérieur de la variable physiologique comparativement à la case bleue de l'essence ou du traitements associé. Les cases présentées en couleur plus clairs présentent des effets significatifs de l'interaction entre le traitement et le temps représenté par le jour julien ou Day of the Year (DOY). Les termes qui n'ont pas présenté de différences significatives entre les essences ou les traitements sont indiqués par le sigle NS. ....	43

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 Distribution des traitements avec les deux traitements de précipitations et les traitements de températures. ....	10
Figure 2 Représentation graphique de la température moyenne (°C), du couvert de neige (cm) et de la radiation solaire (MJ/m <sup>2</sup> ) durant les mois d'échantillonnages des deux années d'études 2023-2024 en cyan et 2024-2025 en orange. Données provenant d'environnement Canada, station l'Aéroport Jean-Lesage. ....	11
Figure 3 En haut : Température létale représentant la probabilité de 50% de lyse des cellules (LT <sub>50</sub> ) des aiguilles. En bas : Pourcentage de lyse maximale (% lyse) au cours des deux hivers 2023-2024 et 2024-2025 pour les essences épinette noire et sapin baumier et les différents traitements de température et de précipitation. AC : Ambiants Contrôle des précipitations, AS : Ambient Stress hydrique, RC : Réchauffé Contrôle des précipitations, RS : Réchauffé Stress hydrique. La LT <sub>50</sub> n'a pas pu être calculer en décembre et en mars des deux hivers, lorsque la lyse maximale était trop faible. ....	21
Figure 4 Variations relatives (%) des moyennes marginales estimées selon les variables physiologiques lors des deux hivers. Le premier graphique du haut présente ces variations entre les essences, l'épinette noire et le sapin baumier (espèce de référence : épinette noire). Le graphique du milieu présente les variations entre les traitements de température : ambient et réchauffé (référence de comparaison). Le troisième et dernier graphique présente quant à lui les variations entre les traitements de précipitations : contrôle et stress hydrique (référence de comparaison). ....	21
Figure 5 Osmolalité des aiguilles (mOsm/kg H <sub>2</sub> O) et contenu en eau (%) au cours de l'hiver 2023-2024 et 2024-2025 pour les essences épinette noire et sapin baumier et les différents traitements de température et de précipitations. AC : Ambient Contrôle des précipitations, AS : Ambient Stress hydrique, RC : Réchauffé Contrôle des précipitations, RS : Réchauffé Stress hydrique. ....	24
Figure 6 Concentration en amidon, en glucose, en fructose, en saccharose et en raffinose des aiguilles (mg·g dw <sup>-1</sup> ) au cours de l'hiver 2023-2024 et 2024-2025 pour les essences épinette noire et sapin baumier et les différents traitements de température et de précipitations. AC : Ambient Contrôle des précipitations, AS : Ambient Stress hydrique, RC : Réchauffé Contrôle des précipitations, RS : Réchauffé Stress hydrique. ....	27
Figure 7 Analyse des composantes principales des variables physiologiques et environnementales selon la période : Acclimatation (Acclim) et désacclimatation (Désacclim) et l'espèce : épinette noire (EPN) et sapin baumier (SAB). Variables physiologiques : Lyse ; Osmolalité (Osmo) ; Contenu en eau (WC) ; Fructose (Fru) ; Glucose (Glu) ; Raffinose (Raf) ; Saccharose (Sac) ; Amidon (Ami). Variables environnementales : Température moyenne (Tmoy) ; Couvert de neige (Neige) ; Radiation (Rad). ....	29
Figure 8 Matrice de corrélation illustrant les coefficients de corrélation entre les variables physiologiques mesurées et les variables environnementales. La moitié supérieure de la matrice représente les coefficients de corrélation pendant la phase d'acclimatation, tandis que la moitié inférieure correspond à la phase de désacclimatation. Les coefficients de corrélation varient entre -1 et +1 sont représentés par un dégradé de couleurs allant du bleu (corrélation négative) au rouge (corrélation positive). Variables environnementales : Température moyenne (Tmoy) ; Couvert de neige (Neige) ; Radiation (Rad). Variables physiologiques : Lyse ; Osmolalité (Osmo) ; Contenu en eau (WC) ; Fructose (Fru) ; Glucose (Glu) ; Raffinose (Raf) ; Saccharose (Sac) ; Amidon (Ami). ....	30
Figure 9 Prédictions de la lyse maximale (%) en fonction de la concentration en fructose et en raffinose, de l'osmolalité et du contenu en eau et des variables environnementales pour chaque espèce et se basant sur le modèle GLS. La ligne en rouge représente les prédictions pour l'épinette noire (EPN) et celle en bleu représente celle du sapin baumier (SAB). ....	32
Figure 10 Prédictions de la lyse maximale (%) en fonction de l'osmolalité, de la concentration en sucres et des variables environnementales pour chaque traitement et ce en se basant sur le modèle GLS. Le traitement ambient avec contrôle des précipitations (AC) est présenté en	

rouge, le traitement ambiant avec stress hydrique (AS) en vert, le traitement réchauffé avec un contrôle des précipitations (RC) en bleu et le traitement réchauffé en stress hydrique (RS) en violet. .... 34

## LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES SIGLES

AIC : Akaike information criterion  
COR : Cold responsive  
DOY : Day Of the Year  
EPN : Epinette Noire  
Fru : Fructose  
Glu : Glucose  
GLS : Generalized Least Squares  
IPCC : Intergovernmental Panel on Climate Change  
LC-MS : Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry  
LEA : Late embryogenesis abundant  
LT<sub>50</sub> : Lethal temperature of 50% of cells  
MF : Masse Fraiche  
MS : Masse Sèche  
NIRS : Near-InfraRed Spectroscopy  
Osmo : Osmolalité  
PC : Principal component  
PCA : Principal component analysis  
Pin : Pinitol  
Rad : Radiation  
Raf : Raffinose  
REL : Relative Electrolyte Leakage  
RFOs : Raffinose Family Oligosaccharides  
RMSECV : Root Mean Square Error of Calibration  
RPD : Residual Predictive Deviation  
RPM : Rotation par minute  
SAB : Sapin baumier  
SIM : Selected Ion Monitoring  
Suc : Sucrose  
T-Face : Temperature-Free Air Controlled Enhancement system  
T mean : Température moyenne  
VPD : Vapor pressure déficit  
WC : Water Content

## DÉDICACE

*À mes parents, ma sœur et mes amis*

## REMERCIEMENTS

Je souhaite tout d'abord exprimer ma gratitude à ma directrice de recherche, Annie Deslauriers, pour la confiance qu'elle m'a accordée en me confiant la réalisation de ce projet. Je souhaite la remercier pour sa grande disponibilité, son encadrement et les précieux conseils dont elle m'a fait part durant l'entièreté de ma formation. Grâce à ses analyses et à ses critiques, j'ai pu approfondir mes connaissances physiologiques, renforcer mes compétences analytiques et améliorer ma rigueur rédactionnelle.

Je souhaite également souligner l'aide précieuse de Catherine Tremblay, technicienne du laboratoire EcoTer, qui m'a accompagnée dans l'organisation et la réalisation de mon échantillonnage. Son expertise technique, ses conseils avisés et son soutien lors de nombreux imprévus liés à l'appareillage ont été essentiels au bon déroulement de mes analyses. Je tiens à remercier, Matthias Ahmad Mslati, technicien de laboratoire, pour son travail d'optimisation des protocoles d'analyses de concentrations en amidon et en sucres. J'adresse également mes remerciements à la professionnelle de recherche Valérie Néron, pour ses enseignements relatifs à la structuration de mes données et pour le partage de son expertise en statistique. Je tiens à remercier toutes ces personnes ainsi que Denise Alano, étudiante à la maîtrise en ressources renouvelables et Sylvain Giraudo, stagiaire pour le Service canadien des forêts, pour les nombreuses heures consacrées à l'exécution des tests de résistance au froid. Leur aide a été indispensable à la réalisation de ce projet.

Je souhaite par ailleurs exprimer toute ma reconnaissance à la postdoctorante, Rosario Guzmán-Marín, pour son accompagnement et son soutien au cours de la dernière année. Nos échanges enrichissants ont grandement contribué au développement de mes compétences statistiques et rédactionnelles.

Je remercie également, Nicole Marques, stagiaire et Bijay Pandeya, étudiant au doctorat, pour leur expertise et leur précieuse aide lors de mon apprentissage des méthodes statistiques et de leur mise en application. Je tiens à remercier tous les étudiants et le personnel du Département des Sciences Fondamentales, et plus particulièrement du laboratoire EcoTer, pour leur aide, leur soutien et les discussions enrichissantes qui ont contribué, de près ou de loin, à mon apprentissage.

Je tiens aussi à remercier les partenaires de ce projet, Kaysandra Waldron, Dominique Boucher et Stéphane Bourassa, affiliés au Centre de Foresterie des Laurentides du Service canadien des Forêts pour la pertinence de leurs suggestions et de leurs conseils, ainsi que pour le soutien technique de l'installation de recherche.

## INTRODUCTION

### Changements climatiques

Les changements climatiques constituent un des enjeux mondiaux du XXI<sup>e</sup> siècle, tels que démontrés par des changements dans les régimes de précipitation ou par l'augmentation des températures moyennes (IPCC 2023). Au niveau mondial, les températures de surface ont été plus élevées de 1,09°C sur la période de 2011 à 2020 en comparaison avec la période de 1850 à 1900 avec des augmentations plus élevées pour les terres (1,59°C) que pour les océans (0,88°C) (IPCC 2023). Depuis 1950, les extrêmes de température maximales incluant les vagues de chaleur sont devenus plus fréquentes et plus sévères tandis que les extrêmes froids et les vagues de froids sont devenus moins fréquents et moins sévères (IPCC 2023). De nombreux modèles climatiques projettent une intensification des précipitations accompagnée d'une réduction de leur fréquence ce qui pourrait potentiellement entraîner davantage de périodes de sécheresse et d'inondations (Trenberth *et al.* 2003; Sun *et al.* 2007; Dai *et al.* 2018; Dai *et al.* 2020).

Au Canada, la température moyenne de l'air a augmenté de 1,7°C de 1948 à 2012 avec des augmentations maximales comprises entre 4 et 6°C observées à l'hiver dans les régions du nord-est (nord de la Colombie-Britannique et de l'Alberta, Yukon, Territoires de l'ouest et l'ouest du Nunavut) (Vincent *et al.* 2015). Ce réchauffement observé en hiver a raccourci la saison froide, augmentant la saison de croissance d'environ 15 jours pendant la période de 1948 à 2016 (Vincent *et al.* 2018). En été, le nombre de jours où la température a été supérieure à 25°C a augmenté de 1 à 3 jours dans les régions du sud de la Colombie-Britannique, du sud du Québec et des Maritimes sur la période de 1948-2016 (Vincent *et al.* 2018). Les changements de précipitations ont montré plus de variabilité spatiale et temporelle avec tous de même des augmentations nationales du nombre de jours avec précipitations sous forme de pluie de 7,4 jours (Vincent *et al.* 2018). Cependant, une diminution du nombre de jours de neige de 1,6 jours, sauf dans les régions du nord où la neige a augmenté de 7,3 jours sur la période 1948-2012 (Vincent *et al.* 2018). Les projections au Canada des différentes

émissions de gaz à effet de serre montrent une augmentation de la température de l'air ainsi qu'une augmentation des précipitations à l'horizon 2100, avec des augmentations plus marquées pour les scénarios présentant les émissions les plus fortes (Abdelmoaty *et al.* 2025).

### **Effets des changements climatiques sur les forêts**

La température estivale et l'humidité du sol sont deux variables à l'origine de la croissance de la forêt boréale au Canada (Girardin *et al.* 2016). Ainsi, l'augmentation des températures et les stress hydriques résultant des changements climatiques agissent directement sur les écosystèmes boréaux en modifiant le métabolisme et la physiologie de la flore, ce qui peut entraîner des conséquences sur l'allongement de la saison de croissance (Bourque et Simonet 2008) ou sur la productivité des forêts (Picard *et al.* 2005; Ammer 2019). De manière générale, il a été démontré qu'une augmentation de la température de l'air combinée à une diminution de l'eau disponible conduit à une diminution de la biomasse aérienne nette, résultant de l'augmentation de la mortalité et d'une croissance réduite (Allen *et al.* 2010; Chen et Luo 2015). Les diminutions de la croissance et la mortalité résultent toutes les deux de l'effet des stress environnementaux sur la physiologie des arbres. Ces stress peuvent résulter de conditions estivales qui affectent le statut hydrique en été (*voir stress estivaux plus bas*), sans savoir si cela entraîne des répercussions durant la saison froide. En effet, les stress dus soient aux sécheresses, soit au froid, entraînent tous les deux une dessiccation des organes et des ajustements osmotiques (Xiong et Zhu 2002).

### **Stress estivaux et stratégies de protections**

La température estivale de l'air, l'humidité du sol et l'humidité de l'air, influencent le statut hydrique des arbres (Jarrell *et al.* 1999; Cochard *et al.* 2021). Ce statut est couramment mesuré à l'aide du potentiel hydrique ( $\Psi_w$ ), un paramètre décrivant les flux d'eau le long du continuum sol – plante – atmosphère (Taiz *et al.* 2015). Le potentiel hydrique est la somme du potentiel osmotique ( $\Psi_s$ ), du potentiel de pression ( $\Psi_p$ ) et du potentiel gravitationnel ( $\Psi_g$ ) mais cette dernière

composante n'est généralement pas prise en considération (Taiz *et al.* 2015). Le potentiel osmotique, ou potentiel en solutés ( $\Psi_s$ ), représente l'effet des solutés dissous sur le potentiel hydrique (Traversari *et al.* 2020). L'osmolalité est ainsi la concentration de solutés osmotiquement actifs (sucres, ions, acides aminés, etc) par kilogramme de solvant, le plus souvent de l'eau (mOsm/kg<sub>H2O</sub>) (Erstad 2003).

Avec l'augmentation des températures et la diminution de l'humidité de l'air, le déficit de pression de vapeur entre la feuille et l'air augmente (*vapor pressure deficit*, VPD). Une augmentation du VPD entre l'apoplaste des feuilles et l'air extérieur, influence des processus comme la fermeture des stomates afin de limiter au maximum la perte d'eau (Running 1976), limitant considérablement l'évapotranspiration (Fletcher *et al.* 2007; Nourtier 2011) et entraînant une diminution de la photosynthèse (Grossiord *et al.* 2020). Une diminution de la croissance est généralement observée les années suivant une forte sécheresse (Sarris *et al.* 2007; Cailleret et Davi 2011) et une diminution des capacités reproductrices comme la production de graines peut aussi être affectée à court et à long terme (Bréda *et al.* 2006). En conditions de stress hydrique estival, la résistance des arbres fait intervenir des mécanismes d'évitement et de tolérance de la déshydratation (Brendel et Cochard 2011). Le mécanisme d'évitement du stress hydrique passe par le maintien d'une hydratation suffisante dans les tissus (Brendel et Cochard 2011) tandis que la tolérance au stress hydrique implique le maintien de la pression de turgescence ( $\Psi_p$ ) par l'ajustement osmotique des cellules grâce à l'accumulation de solutés (Zhang *et al.* 2002). Ces ajustements osmotiques mobilisent des solutés organiques tels que la proline et la glycine bêtaïne, synthétisés dans le cytoplasme (Zhu *et al.* 2003; Chen et Jiang 2010). Ces ajustements mobilisent également des glucides non-structuraux, comme le raffinose, qui augmente sa concentration dans les cellules vivantes lorsque le  $\Psi_w$  diminue et qui est positivement corrélée à l'intensité de l'ajustement osmotique (Deslauriers *et al.* 2014). La tolérance implique également la diminution du volume des cellules du symplasme et des espaces d'air de l'apoplaste (Nilsen et Orcutt 1996).

De façon similaire à la réponse des plantes à un stress hydrique estival, les glucides non-structuraux, tels que le raffinose, augmentent lors de l'acclimatation au froid (Charrier *et al.* 2013; Deslauriers *et al.* 2014; Beauvieux *et al.* 2018). Ces similarités sont le résultat de l'adaptation des plantes à une déshydratation, qu'elle soit due à une sécheresse en été ou à une diminution de l'eau libre en l'hiver pour éviter la formation de glace (*voir résistance au froid plus bas*).

### **Résistance au froid et stratégies de protection**

Afin de faire face aux stress liés au gel, les arbres utilisent aussi des stratégies de protection comme l'évitement et la tolérance (Charrier *et al.* 2015). L'évitement de formation de glace inclut des mécanismes permettant à des poches d'eau de rester à l'état liquide à des températures très basses (surfusion; (Wisniewski *et al.* 2018). Ainsi, les contenus cellulaires demeurent à l'état liquide malgré une température inférieure à son point de congélation. Ces cellules en surfusion ne sont donc pas exposées à la déshydratation associée à la tolérance au froid. L'évitement de la formation de glace dans les tissus repose sur des mécanismes limitant à la fois la migration de l'eau du milieu intracellulaire (symplasme) vers le milieu extracellulaire (apoplasme) (Wang *et al.* 2012), tout en empêchant la nucléation spontanée de la glace dans les solutions intracellulaires (Yamada *et al.* 2002). L'évitement du gel est également induit par des processus phénologiques, comme la formation des bourgeons pour la protection des méristèmes (Rohde et Bhalerao 2007).

La seconde stratégie mise en place par les plantes pour augmenter leur résistance au froid est la tolérance. Un des mécanismes de tolérance au gel est la formation de glace extracellulaire. Celle-ci est simplement une déshydratation des cellules par migration de l'eau vers l'apoplasme (Deslauriers *et al.* 2021). Cette eau extra-cellulaire est la première à geler lors d'évènements de gel. Les bourgeons en dormance peuvent même accumuler des masses d'eau gelées dans des espaces distants de leurs tissus primordiaux. Cette adaptation est d'ailleurs appelée « congélation extra-organe » (Ishikawa *et al.* 2015).

La tolérance au gel repose également sur le contrôle osmotique des tissus vivants, via l'osmolalité et le potentiel osmotique ( $\Psi_s$ ). En effet, la tolérance au gel s'acquière en accumulant des composés cryoprotecteurs (sucres, protéines, etc.) et en abaissant la teneur en eau libre dans les tissus (Charrier *et al.* 2015). La dessiccation intracellulaire va diminuer le potentiel osmotique et donc diminuer la température de gel de la cellule à  $-1,86^\circ\text{C}$  par mole (Arora 2019). L'augmentation des solutés incluent notamment des sucres, des protéines, des flavonoïdes ou encore des tannins hydrolysables (Charrier 2011; Duman et Wisniewski 2014). Les solutés empêchent la formation des liaisons hydrogènes, ce qui abaisse le point de fusion et empêche la formation de glace dans la cellule (Cavender-Bares 2005). Parmi les protéines augmentant la tolérance au froid, la famille des protéines *Cold responsive* (COR) occupe une place importante (Wisniewski *et al.* 2018). Ces protéines permettent la stabilisation de la membrane plasmique, favorisent la biosynthèse de produits osmo-protecteurs tels que les sucres et la proline (Wang *et al.* 2024). Une autre famille de protéines, nommée LEA (*late embryogenesis abundant*), est impliquée dans la résistance à la déshydratation notamment en stabilisant les membranes et en se liant à des ions ce qui va permettre la tolérance au froid (Hernández-Sánchez *et al.* 2022; Mohanty et Hembram 2024). De nombreux sucres sont aussi connus pour augmenter la résistance au froid des plantes. Ces sucres solubles proviennent de la dégradation des réserves d'amidon par des enzymes tels que l' $\alpha$ -amylase ou l'amidon phosphorylase (Hopkins 2003). L'activité de ces enzymes est corrélée de manière positive avec la diminution de la température (Elle et Sauter 2000). Une forte concentration en sucres permet également de diminuer le point de congélation et de protéger les structures cellulaires de la déshydratation hivernale (Lee *et al.* 2012; Palacio *et al.* 2015). Parmi ces sucres figurent le raffinose, le pinitol et le galactose (Li *et al.* 2023), mais également des sucres plus classiques comme les hexoses, composés du glucose et du fructose (Shen *et al.* 2022; Li *et al.* 2023).

### **Acclimatation et désacclimatation au froid**

L'acclimatation au froid est un processus saisonnier qui peut être décomposée en trois périodes (Weiser 1970; Sakai et Larcher 1987). La première période est l'arrêt de la croissance au

début de l'automne induite par des facteurs internes à la plante, elle correspond à l'entrée en paradormance (Lang *et al.* 1987). La seconde période qui est induite par la diminution des températures et de la photopériode, les arbres entrent en endodormance (Lang *et al.* 1987). Durant cette période, les processus métaboliques d'acclimatation au froid sont mis en place, notamment avec l'augmentation des solutés (*voir Résistance au froid et stratégies de protection*) mais également avec la chute foliaire (Sakai et Larcher 1987). La troisième étape intervient lorsque les températures sont inférieures à zéro sur de longues durées, durant laquelle la déshydratation cellulaire se met en place ce qui permet l'acclimatation maximale de la plante (Weiser 1970). Une exposition des plantes à des températures faibles durant une certaine période (i.e. chilling) est nécessaire à la levée de l'endodormance pour poursuivre vers la phase de désacclimatation au froid (Chuine *et al.* 2016).

La désacclimatation au froid au printemps est régulée principalement par l'augmentation des températures de l'air (Bonhomme *et al.* 2013) et par une augmentation de la photopériode. Durant cette période appelée également écodormance, ces conditions environnementales, vont mener à la perte de résistance au froid et débourrement (Charrier *et al.* 2011; Kovaleski *et al.* 2018; Kovaleski 2022; North *et al.* 2022). Durant l'écodormance, la résistance au froid des bourgeons diminue pour finir par être très faible au printemps (Mura *et al.* 2025b). Lors de gels tardifs, les dommages induis par le froid sur les bourgeons peuvent ainsi être importants (Lenz *et al.* 2016; Mura *et al.* 2022) et causer de forts dommages aux cultures et aux forêts (Rigby et Porporato 2008; Chamberlain *et al.* 2019). Par ailleurs, plus une plante accumule des températures froides (i.e. chilling) et moins il faudra une grande somme de températures chaudes pour débourrer (Saxe *et al.* 2001). De nombreuses études sont en cours afin d'étudier ces minima d'accumulation de température froide et chaude afin de mieux comprendre cette dormance et l'impact des changements climatiques sur ces phénomènes (North et Kovaleski 2024; Mura *et al.* 2025a).

## **Espèces boréales étudiées**

L'épinette noire et le sapin baumier font partie des conifères les plus importants d'Amérique du Nord, en terme d'aire de répartition (Frank 1990; Lamhamedi et Bernier 1994). Ces deux essences présentent une importance économique majeure en foresterie, notamment dans l'industrie des pâtes et papiers ainsi que pour la production du bois d'œuvre (Frank 1990; Lamhamedi et Bernier 1994). L'épinette noire est plus sensible au stress hydrique que d'autres conifères boréaux (Grossnickle et Blake 1987; Lamhamedi et Bernier 1994), étant donné son système racinaire peu profond et sa croissance très lente (Grossnickle et Blake 1987; Bernier 1993). Sa sensibilité aux stress hydrique n'est pas identique dans le temps, en effet elle augmente fortement entre le débourrement et la moitié de la période de croissance de la pousse annuelle puis diminue après celle-ci (Zine El Abidine 1994). Cette sensibilité accrue au stress hydrique au début de la période de croissance pourrait ainsi entraîner des conséquences sur la mortalité des bourgeons durant le débourrement ou bien sur la longueur et la vitalité de la nouvelle pousse. Des conséquences similaires pourraient être observées pour le sapin baumier même s'il présente une certaine tolérance et une plasticité dans la croissance du xylème et de la croissance apicale lors de faibles épisodes de sécheresse (Rossi *et al.* 2009; Ravn *et al.* 2022). De plus, la réponse à des épisodes de chaleur et de sécheresse ne se limitent pas à des effets immédiats sur la croissance mais peuvent également affecter la croissance ultérieure comme chez le sapin baumier lors d'expositions marqués au réchauffement (Ravn *et al.* 2023).

## **Objectif et hypothèses**

Les adaptations des plantes aux stress hydriques estivaux et aux stress dues au froid présentent de nombreuses similarités. Ainsi l'objectif principal de cette étude est d'étudier les effets d'une augmentation de la température et de la dessiccation estivale sur la résistance au froid, le contenu en eau, l'osmolalité et les concentrations en amidon et en glucides non-structuraux à l'hiver. Pour ce faire, ces paramètres physiologiques seront mis en relation avec différents paramètres environnementaux tels que la température de l'air, la photopériode, la radiation et le couvert de neige

à l'hiver. Ces mesures seront réalisées sur l'épinette noire [*Picea mariana* B.P.S. (Mill.)] et sur le sapin baumier (*Abies balsamea*, L. Mill.). Des semis de 5 ans ont été plantés dans un dispositif en champ avec des traitements d'augmentation de la température (+2°C) et de stress hydrique (-65% de précipitation). Les hypothèses suivantes ont été vérifiées :

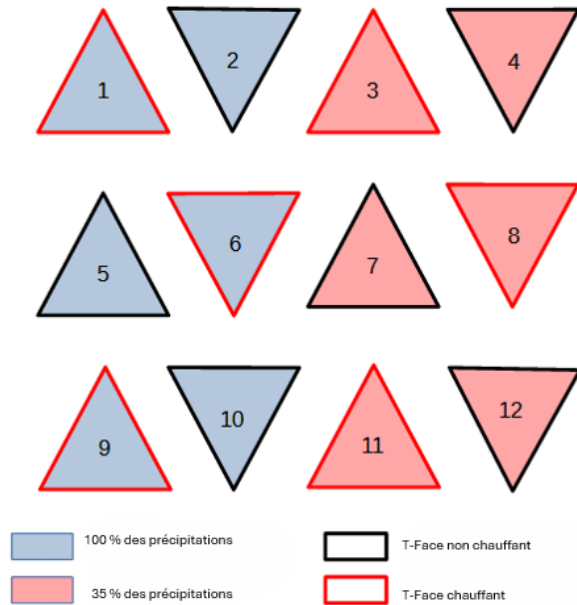
1. Il est attendu à ce que l'osmolalité (quantité de solutés totaux dissous dans l'eau) et la concentration en glucides non-structuraux (sucres) vont être plus important à mesure que la résistance au froid va augmenter et *vice versa*.
2. Les traitements chauffés et/ou en stress hydrique vont présenter une concentration en glucides non-structuraux plus élevée et un contenu en eau plus faible à l'automne. Ces conditions devraient donc favoriser une meilleure résistance au froid à cause de la ressemblance entre les mécanismes entre les stress estivaux et hivernaux.

## CHAPITRE 1 MATERIEL ET MÉTHODES

### 1.1 Site de l'étude

L'étude s'est déroulée sur un terrain géré par le service Ressources Naturelles Canada, présent sur la commune de Saint-Gabriel-de-Valcartier (46°94'N, -71°49'O, QC, Canada). L'expérience a été réalisée dans un dispositif T-Face (Temperature-free-Air Controlled Enhancement system) installé en champ, qui augmente la température ambiante de l'air d'environ 2°C de mi-mai jusqu'à la fin octobre (Figure 1, Table 1). Six parcelles sont munies d'un dispositif chauffant tandis que six autres servent de témoins. Une exclusion de 65% des précipitations (traitement de sécheresse) a été mise en place grâce à la présence de toits percés munis de gouttières sur 6 parcelles. Six autres parcelles, dont 3 chauffées et 3 non-chauffées, sont aussi munies de toits percés afin d'avoir un traitement contrôle avec 100 % des précipitations (Figure 1, Tableau 1). Des enregistreurs de données captent la température (°C) et l'humidité de l'air et du sol (% d'humidité) dans chaque parcelle.

Au sein du dispositif, 384 semis ont été plantés en 2021, parmi lesquels on retrouve un nombre égal d'épinette noire et de sapin baumier. Les parcelles présentent ainsi 32 semis de 5 ans chacune, ayant 16 arbres d'épinette et 16 de sapin par T-Face. Les épinettes noires ont été d'une hauteur d'en moyenne  $92,7 \pm 25,3$  cm et de  $57,3 \pm 21,3$  cm pour les sapins baumier fin août 2023. À noter qu'en plus des 384 semis numérotés, des semis supplémentaires ont été plantés en bordure de chaque parcelle afin de minimiser l'effet de bordure.



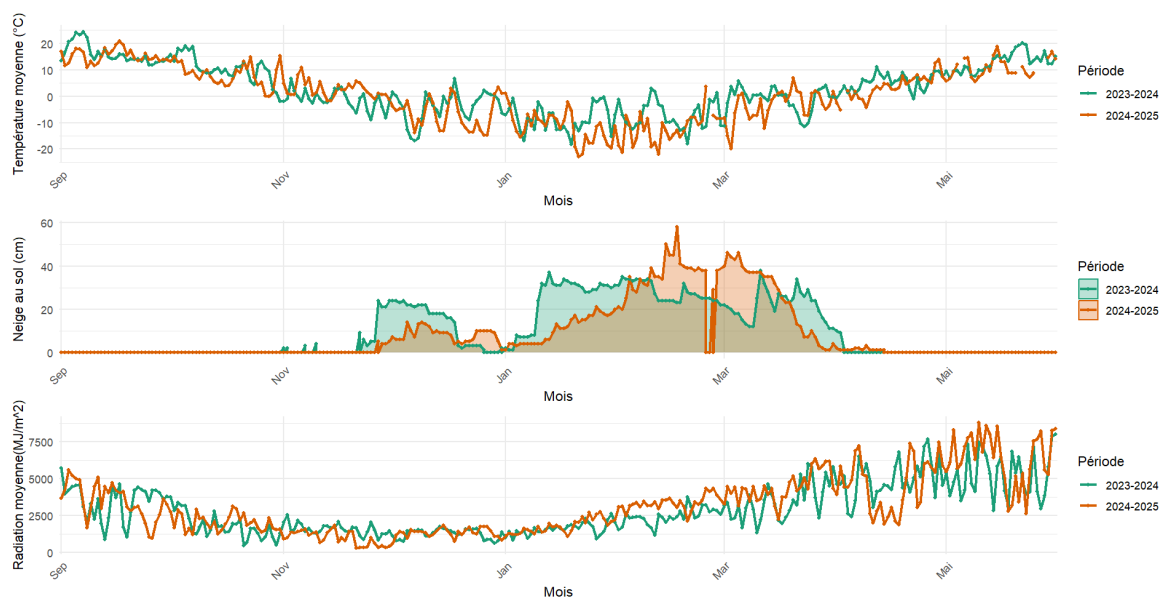
**Figure 1** Distribution des traitements avec les deux traitements de précipitations et les traitements de températures.

**Tableau 1** Attribution des acronymes des traitements de précipitations et de températures.

Traitement de température	Traitement de précipitation	Acronyme
Ambiant	100% des précipitations du site = contrôle	AC
	35% des précipitations = stress hydrique	AS
Réchauffé	100% des précipitations du site = contrôle	RC
	35% des précipitations = stress hydrique	RS

L'échantillonnage a été réalisé entre septembre et mai au cours des hivers 2023-2024 et 2024-2025. Le chauffage des T-Face était arrêté durant la majorité des prises de mesures, à l'exception des mois de septembre, d'octobre et de mai. Les températures moyennes ont été comprises entre 24,5 et -18,3 °C pour l'hiver 2023-2024 et entre 20,8 et -23°C pour l'hiver 2024-2025 (Figure 2). L'hiver 2023-2024 a été plus doux d'environ 2°C par rapport à l'hiver 2024-2025. Le premier jour de gel où la température moyenne journalière a été inférieure ou égale à zéro, est survenu le 31 octobre 2023 pour l'hiver 2023-2024, tandis qu'il est survenu le 28 octobre en 2024 pour l'hiver 2024-2025. Le dernier gel de chaque hiver est survenu le 22 avril 2024 et le 10 avril 2025. Entre le premier et le dernier gel, 60 jours ont présenté des températures supérieures ou

égales à 0°C pour l'hiver 2023/2024 et 54 jours pour l'hiver 2024/2025. Ces journées se sont présentées principalement en novembre pour l'hiver 2024-2025 et en mars et avril pour l'hiver 2023-2024. Durant l'hiver 2023-2024, la première neige a été observée le 1<sup>er</sup> novembre 2023, avant de s'installer le 23 novembre (Figure 2). À la suite d'un redoux des températures entre le 26 et le 29 décembre 2023 (températures moyennes entre 2,2 et 0,4°C), le couvert de neige a disparu entre le 27 et le 30 décembre de la même année. Avant de s'installer durablement jusqu'au 3 avril 2024. Le couvert de neige maximal a été atteint avec 38 cm, le 11 mars. Pour l'hiver 2024-2025, la neige s'est installée de façon durable le 27 novembre suite à la première neige et s'est maintenue jusqu'au 14 avril 2025 atteignant une valeur maximale de 58 cm le 17 février 2025 (Figure 2). Durant l'hiver 2023-2024, la radiation moyenne a diminué de 3524 MJ/m<sup>2</sup> en septembre à 1263 MJ/m<sup>2</sup> en décembre avant de réaugmenter à partir de janvier (Figure 2). La radiation moyenne atteint son maximum en mai avec une radiation de 5293 MJ/m<sup>2</sup>. Pour l'hiver 2024-2025, la radiation possède la même tendance que la radiation durant l'hiver 2023-2024. La radiation moyenne diminue de 3500 à 971 MJ/m<sup>2</sup> entre septembre et novembre avant de réaugmenter à partir de décembre jusqu'à une radiation maximale à 6409 MJ/m<sup>2</sup> en mai 2025 (Figure 2).



**Figure 2** Représentation graphique de la température moyenne (°C), du couvert de neige (cm) et de la radiation solaire (MJ/m<sup>2</sup>) durant les mois d'échantillonnages des deux années d'études 2023-2024 en cyan et 2024-2025 en orange. Données provenant d'environnement Canada, station l'Aéroport Jean-Lesage.

## 1.2 Echantillonnage et analyse

Deux périodes d'échantillonnages ont été réalisées allant de l'automne au printemps pour les années 2023-2024 et 2024-2025. L'échantillonnage a été réalisé environ aux 6 semaines de septembre à mai, sauf entre le mois de janvier et la mi-mars où les semis étaient recouverts de neige. Pour chaque date d'échantillonnage, 24 individus ont été présélectionnés de manière aléatoire. Une branche de semis par arbre, par espèce, par T-Face a été prélevée pour les analyses des paramètres hydriques (osmolalité, contenu en eau) et de glucides non-structuraux (sucres et amidon). Une fois prélevé, les branches ont été placées dans un sac en plastique avec un papier humide, scellées et conservées au froid à environ 5°C jusqu'au lendemain.

### 1.2.1 Détermination du contenu en eau et de l'osmolalité

Le lendemain, le contenu en eau [*Water Content* (WC, %)] et l'osmolalité (mosmol/kg H<sub>2</sub>O) ont été mesurés au laboratoire. Pour la détermination du WC, un apex terminal de la branche a été coupé et la masse fraîche (MF, mg) a été déterminée. Après un séchage au speed vac (Vacufuge plus, Eppendorf®), la masse sèche a été déterminée (MS, mg). Le contenu en eau a été calculé selon (Traversari *et al.* 2020) :

$$WC(\%) = \frac{MF - MS}{MF} * 100$$

L'osmolalité des aiguilles a été déterminée à partir d'un autre apex de la branche. Les aiguilles ont été découpées aux ciseaux séparément. Une masse de 0,1 g de tissus frais (masse fraîche, MF) a été pesée dans un tube Eppendorf®, avec 0,5 mL d'eau pure (volume ajouté,  $v_a$ , équivalent à 0,0005 kg d'eau). Après avoir été homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex, les tubes ont été congelés pendant la nuit. Après décongélation des échantillons à température ambiante pendant une heure, les tubes ont été de nouveau agiter à l'aide d'un vortex avant de les placer dans un bain à ultrasons (Fisherbrand™) pendant 20 minutes. Après centrifugation, 20 µL ont été prélevés pour la

mesure de l'osmolalité à l'aide d'un osmomètre cryoscopique (Osmopro, Advanced Instruments®). Après les mesures à l'osmomètre, les tubes ont été séchés au speed vac (Vacufuge plus, Eppendorf®) pendant 24h et la masse sèche du feuillage a été déterminée MS (mg). Comme 0,0005 kg d'eau a été ajouté au début de la procédure, l'osmolalité a été corrigée en tenant compte du poids frais et du poids sec des aiguilles, en calculant le volume d'eau initiale dans les aiguilles ( $v_i$ , kg) :

$$v_i = \frac{MF - MS}{1000}$$

Par la suite, un facteur de correction (F, sans unité) a été calculé pour tenir compte du volume d'eau initiale ( $v_i$ , Kg) et du volume d'eau ajouté ( $v_a$ , kg) :

$$F = \frac{(v_i + v_a)}{v_i}$$

L'osmolalité finale ( $Osmolalité_f$ , mOsm/kg H<sub>2</sub>O) a été calculé en multipliant le facteur de correction (F) et l'osmolalité mesuré par l'osmomètre cryoscopique ( $Osmolalité_m$ , mOsm/kg H<sub>2</sub>O) :

$$Osmolalité_f = F * Osmolalité_m$$

### 1.2.2 Mesure de la concentration en sucres et en amidon

Comme énoncé dans la partie précédente (*voir Matériels et méthodes 1.2*), 24 individus par date d'échantillonnage ont été prélevés pour les mesures de statut hydrique et de sucres et d'amidon. Ainsi pour chaque branche échantillonnée, une partie va être utilisé pour la détermination de la concentration en sucres et en amidon des aiguilles. De la même manière que pour les autres branches échantillonnées, elles ont été placées dans un sac en papier et conservées dans une glacière à environ 5°C. De retour au laboratoire, les branches ont été congelées à - 160°C pendant 5 minutes à l'aide d'un congélateur à descente contrôlé (CryoMed, ThermoScientific™) puis conservées au congélateur jusqu'à leur lyophilisation pendant cinq jours (Lyovapor™ L-200, Buchi™). Suite à la lyophilisation, les bourgeons, les vieilles aiguilles et la tige ont été séparés avant d'être broyés (CryoMill, Retsch®) à une fréquence de 30 cycles par seconde pendant 30 secondes. Ensuite,

10 à 15 mg de poudre ont été transférée dans un tube en verre (tube A) pour l'extraction des sucres solubles et de l'amidon. Les sucres solubles ont été extraits à l'aide d'une solution chloroforme et méthanol en ajoutant 400 µL de CHCl<sub>3</sub>/MeOH (3:7). Pendant l'extraction, les tubes ont été mélangés à l'aide d'un vortex et placés dans un bain à ultrason pendant 1 minute, avant d'être incubés à - 20°C pendant 2h. Après cette incubation, 500 µL d'une solution standard de sorbitol (1 mg/mL de H<sub>2</sub>O) a été ajouté à chaque tube avant d'être homogénéiser au vortex puis centrifuger pendant 10 minutes à 5000 RPM (rotation par minute). Le surnageant a été versé dans un autre tube (tube S). Un volume de 500 µL d'eau pure a été rajouté aux tubes A avant d'être de nouveau vortexés et centrifugés afin de récupérer le surnageant aqueux contenant les sucres. L'extrait final de 1 mL dans le tube S a ensuite été placé dans une centrifugeuse sous vide (CentriVapR, Labconco™) pour évaporer l'eau. Les sucres solubles ont été remis en suspension avec 1 mL d'eau et 400 µL de cette solution a été analysé avec l'analyseur discret (Gallery™ Plus, ThermoScientific™) à l'aide de kits enzymatiques et photométriques préprogrammés. Les kits utilisés pour la détection sont ceux pour la détection simultanée du D-glucose, D-fructose, et saccharose ensemble (984317, ThermoScientific™) ; D-glucose et D-fructose individuellement (K-FRGLQR, Megazyme®) et finalement raffinose et saccharose individuellement (K-RAFGL, Megazyme®). La concentration en raffinose représente dans cette étude la somme des concentrations en oligosaccharides de la famille des raffinoses.

Un ensemble représentatif d'extraits aqueux d'aiguilles de conifères, a été analysé par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) afin de quantifier le pinitol. Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un système Agilent LC-MS IQ, équipé d'une colonne Shodex SC1011 maintenue à 80 °C, avec de l'eau ultrapure à 100 % comme phase mobile. Le spectromètre de masse était utilisé en mode SIM (Selected Ion Monitoring) en ionisation positive, ciblant les ions d'adduits sodium du pinitol et du sorbitol ([Pinitol+Na]<sup>+</sup> et [Sorbitol+Na]<sup>+</sup>). Le sorbitol, ajouté à une concentration fixe de 50 ppm dans tous les échantillons et solutions standards, servait d'étalon interne. Une courbe d'étalonnage a été établie à partir de solutions de pinitol dont les concentrations variaient de 0 à 55 ppm, toutes contenant 50 ppm de sorbitol. La quantification reposait sur le rapport des signaux ioniques entre le pinitol et le sorbitol. Les poudres sèches des mêmes échantillons

utilisés en LC-MS ont été analysées par spectroscopie proche infrarouge (NIRS) à l'aide d'un spectromètre Bruker et du logiciel OPUS. Un total de 300 échantillons, couvrant une large plage de concentrations en pinitol (déterminées par LC-MS), a été utilisé pour développer un modèle d'étalonnage. Le traitement spectral incluait l'application de la première dérivée combinée à une normalisation vectorielle. Trois régions spectrales ont été sélectionnées pour la calibration : 9400–7496  $\text{cm}^{-1}$ , 5776–5448  $\text{cm}^{-1}$ , et 4424–4248  $\text{cm}^{-1}$ . L'étalonnage a été effectué avec la méthode Quant 2 d'OPUS. Des échantillons aberrants ont été automatiquement exclus pour améliorer la qualité du modèle. Le modèle final, construit avec un rang de 10, a présenté de solides performances statistiques :  $R^2 = 91,13$ ,  $\text{RMSECV} = 3,97$ , et  $\text{RPD} = 3,36$ . Sa robustesse a été validée par validation croisée et à l'aide d'un jeu de test indépendant. Le modèle d'étalonnage validé a ensuite été appliqué à l'ensemble des échantillons afin d'estimer leur teneur en pinitol. Les résultats ont été exprimés en milligrammes de pinitol par gramme de matière sèche ( $\text{mg/g MS}$ ).

Pour la digestion et l'analyse de l'amidon, la méthode AOAC 996.11 (Bellasio et al. 2014) a été suivie. Le culot du tube A après extraction éthanolique a été séché à  $50^\circ\text{C}$  pendant une heure puis 1 mL d' $\alpha$ -amylase thermostable (E-BSTAA, Megazyme®) dans un tampon acétate de sodium ( $\text{pH } 5,0$ ) a été ajouté à chaque tube. Les tubes ont été incubés à  $100^\circ\text{C}$  pendant 12 minutes sur une plaque chauffante. Les tubes ont ensuite été déplacés dans un bain d'eau à  $50^\circ\text{C}$  et 50  $\mu\text{L}$  d'amyloglycosidase (E-AMGDF, Megazyme®) a été ajouté. Les enzymes  $\alpha$ -amylase et amyloglycosidase transforment l'amidon en D-glucose. Après 45 minutes d'incubation, les tubes ont été ramenés à température ambiante. Les tubes ont ensuite été centrifugés à 4500 RPM pendant 2 minutes et 400  $\mu\text{L}$  de chaque tube ont été analysés avec l'analyseur discret Gallery™ Plus à l'aide du kit de détection de D-glucose, comme mentionné ci-dessus. Toutes les concentrations finales ont été converties en mg par g de poids sec de plante ( $\text{mg}\cdot\text{g dw}^{-1}$ ).

### 1.2.3 Détermination de la résistance au froid

Le test de résistance au froid consiste en un test de fuite d'électrolyte (Charrier *et al.* 2018a). Le gel va endommager les cellules et provoquer leur lyse, ce qui entraînera une fuite des électrolytes de la cellule (le contenu du symplasme se vide). La mesure de cette fuite, par conductivité, permettra d'estimer les lésions tissulaires en calculant la fuite relative des électrolytes ou REL (*relative electrolyte leakage* (Charrier *et al.* 2018b)).

Pour chaque date d'échantillonnage (environs aux mois ½, de septembre à avril), un rameau comprenant sept segments d'au moins 5 cm a été coupé sur 24 arbres sélectionnés aléatoirement (3 arbres × 2 traitements de températures × 2 traitements de précipitations × 2 espèces) et préservé à 5°C pendant la nuit. Le lendemain, les rameaux ont été coupés en segments de 5 cm et emballés dans des papiers d'aluminium. Ces papillotes d'aluminium ont été placées dans 7 thermos correspondant aux sept températures cibles du test de résistance au froid, situés entre 5°C et -150°C, lesquelles variaient dépendamment de la période d'échantillonnage. Les températures cibles ont été ajustées en fonction de la résistance au froid estimée à partir des connaissances de la résistance au froid des tiges de *Vaccinium angustifolium* Aiton et *Vaccinium myrtilloides* Michx, dans la région du Saguenay-Lac-Saint-Jean, Canada (Deslauriers *et al.* 2021). Chaque thermos comprenait ainsi un segment de chacun des 24 arbres. Un thermos a été placé à 5°C, correspondant au contrôle non congelé. Les autres thermos ont été placés dans un congélateur à descente contrôlée (CryoMed, ThermoScientific™) avec une descente des températures de -6°C/h, jusqu'à une température létale de toutes les cellules entre -80°C et -150°C. Par la suite, les aiguilles de chaque rameau ont été découpés finement et placés dans des tubes contenant 10 mL d'eau distillée. Les tiges n'ont pas été analysées. Après 16 heures d'agitation à 5°C, une première mesure de la conductivité a été réalisé (C<sub>1</sub>) à partir de 1 mL de la solution après agitation. Cette mesure de conductivité a été réalisée grâce à une sonde électrochimique (ECM) installée dans un auto-analyseur (Gallery™ Plus, ThermoScientific™). Après autoclave de l'intégralité des tubes à 120°C

pendant 30 minutes, une seconde mesure de la conductivité ( $C_2$ ) a été mesurée. La lyse relative des cellules a été déterminée selon (Zhang et Willison 1986) :

$$REL = \frac{C_1}{C_2}$$

où  $C_1$  est la conductivité de la solution mesurée après le passage au congélateur cryoscopique et  $C_2$  est la conductivité de la solution mesurée après l'autoclave.

La valeur de la température létale où 50% de lyse des cellules est observée ( $LT_{50}$ ) a été déterminée grâce au point d'inflexion d'une courbe logistique (Repo et Lappi 1989) :

$$y = \frac{A}{1 + e^{(B(C-x))}} + D$$

où  $y$  définit la lyse relative des cellules  $REL$ ,  $x$  est la température du test,  $D$  définit l'asymptote supérieure, la somme des valeurs de  $A$  et  $D$  est l'asymptote inférieure et  $B$  est la pente au point d'inflexion  $C$ . La température au point d'inflexion  $C$  représente le niveau de résistance au froid (Charrier *et al.* 2018b), déterminant la température létale à 50% de lyse ( $LT_{50}$ ). La lyse maximale (%) atteinte à chacune des dates d'échantillonnage a été déterminée grâce aux données de lyse relative des électrolytes. Cette variable a été calculée afin d'avoir une représentation des dégâts induits par exposition à des températures froides lorsque le calcul de la température létale à 50% de lyse ne pouvait pas être déterminée. Pour chacun des arbres, la lyse maximale a été calculée comme la moyenne de la lyse ( $REL$ ) des trois températures les plus froides testées à une certaine date (de la 5<sup>e</sup> à la 7<sup>e</sup> température atteinte lors de la descente au froid,  $t_5-t_7$ ) :

$$lyse_{maximale} = \frac{\sum_{t_5}^{t_7} REL}{3}$$

où  $\sum_{t_5}^{t_7} REL$  est la somme de la lyse des températures ciblées les plus froides.

### 1.3 Analyse statistique

Des modèles de régressions linéaires mixtes ont été réalisés pour évaluer les effets du temps (en jour julien), des traitements (température et précipitation) et des essences (sapin baumier et épinette noire) sur les variables mesurées. Les effets fixes ont été la date (en jour julien), les essences, les traitements de précipitations, et les traitements de température avec en effet aléatoire le numéro de l'arbre. Ces modèles ont été réalisés avec la fonction *lme* du package *nlme* (Pinheiro *et al.* 2017) sur RStudio (R Core Team, 2024). Ces modèles ont été réalisés pour chacun des hivers afin d'estimer ensuite les effets marginaux pour chaque modalité de facteurs fixes autres que la date. Pour l'optimisation des modèles, des comparaisons de AIC (*Akaike information criterion*) ont été réalisées avec différentes interactions, et seuls les modèles comportant les AIC les plus bas ont été retenus. La réalisation de ces modèles permet ainsi de tester les différences entre les essences, les traitements de température et de précipitation. Un calcul de pourcentage de variation (%) de ces données d'effets marginaux a ainsi été réalisé par variable mesurée. Les variations positives reflétaient des valeurs supérieures pour les modalités de référence tels que l'épinette noire, le traitement réchauffé et le traitement de stress hydrique par rapport au sapin baumier, au traitement ambiant et au contrôle des précipitations.

Les variables environnementales, incluant la température moyenne, la radiation, la photopériode et la couverture neigeuse, ont été calculées à partir des données horaires de la station de l'aéroport Jean-Lesage à Québec (Environnement et Changement climatique Canada 2025). Pour chacune de ces variables des moyennes ont été calculées à l'aide de différentes fenêtres temporelles variant de 1 à  $i$  jours avant la date d'échantillonnage. Des corrélations linéaires (Pearson) ont été effectuées entre les variables physiologiques mesurées et ces moyennes calculées afin de sélectionner la fenêtre temporelle présentant les corrélations les plus fortes. Les corrélations entre les variables physiologiques et les variables environnementales ont été les plus élevées avec une fenêtre temporelle de 7 jours avant l'échantillonnage.

Une analyse de composantes principales (PCA) a été réalisée pour visualiser les corrélations entre les différents paramètres physiologiques mesurés, les variables environnementales et les effets du temps (en période), de l'essence et des traitements. La détermination des périodes repose sur la classification des dates d'échantillonnages, celles comprises entre septembre et décembre correspondent à la phase d'acclimatation, tandis que celles de mars à mai relèvent de la phase de désacclimatation. Une matrice de corrélation de type *Heatmap* a également été réalisée pour visualiser les corrélations entre les différents paramètres physiologiques, les variables environnementales et les essences en fonction de la période (acclimatation ou désacclimatation au froid). Ces analyses de corrélation ont été réalisées afin de mieux comprendre les relations entre les variables environnementales et les variables physiologiques mesurées.

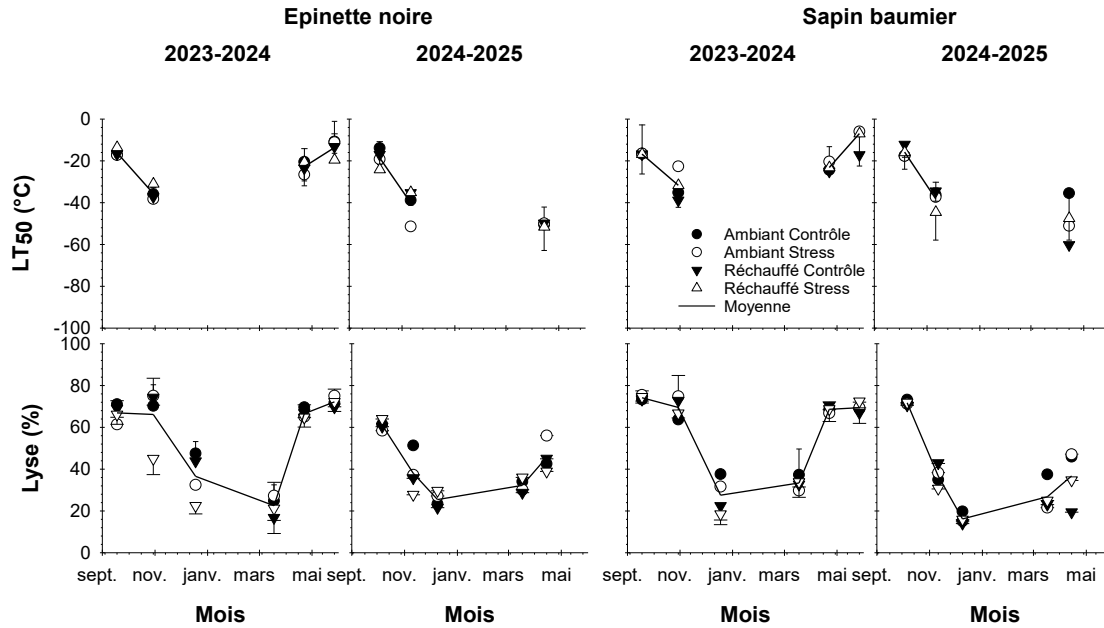
Afin de déterminer, l'impact de l'osmolalité, des sucres, des variables environnementales tels que la neige, la température moyenne de l'air et la radiation, du traitement et de l'essence sur la résistance au froid, une approche de sélection de modèles linéaire par moindres carrés a été réalisée. Ce modèle a été réalisé en utilisant une approche de sélection de modèles par comparaison exhaustive de prédicteurs. Toutes les combinaisons possibles de variables physiologiques et environnementales ont été testés dans des modèles de type *generalized least squares (gls package nlme* (Pinheiro et al. 2017)). Dans chaque modèle, les effets fixes de l'espèce et du traitement ainsi que leurs interactions étaient systématiquement inclus. Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide de RStudio (R Core Team, 2024).

## CHAPITRE 2 RÉSULTATS

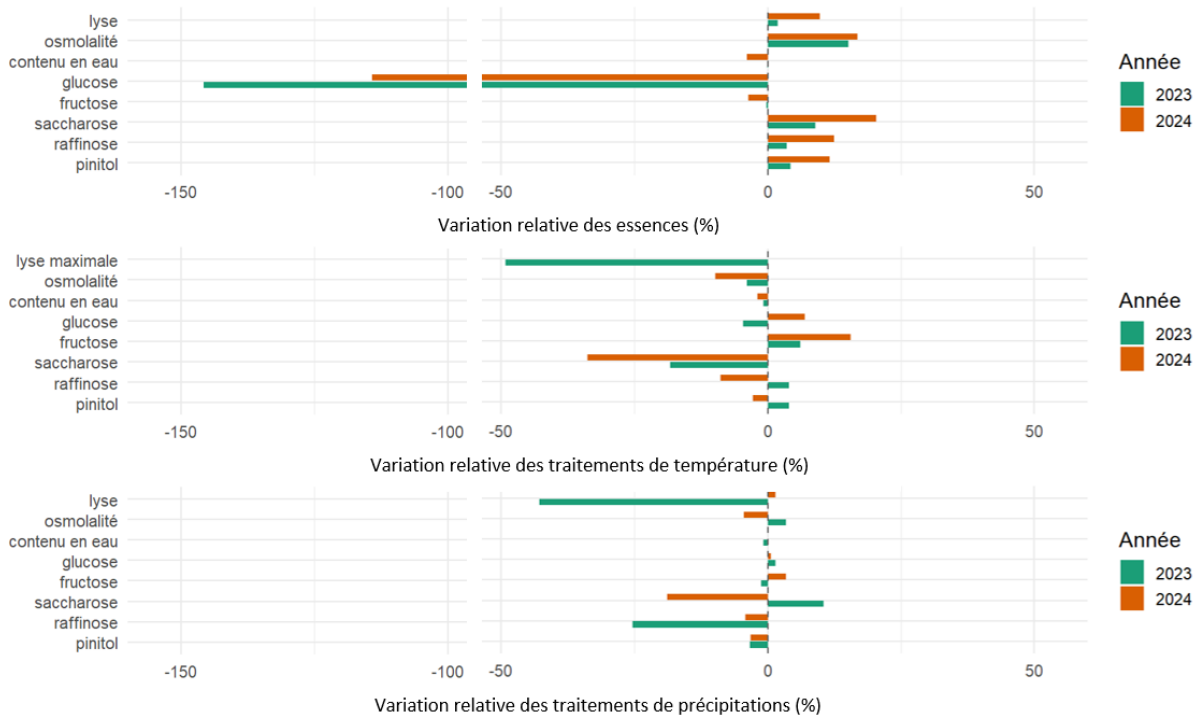
### 2.1 Température létale (LT<sub>50</sub>) et pourcentage de lyse maximale (Lyse max)

Durant la première partie de l'hiver (septembre à décembre), la lyse maximale diminue avant de réaugmenter entre mars et mai (Figure 3). Lors de la première partie de l'hiver, de septembre à décembre, la lyse maximale diminue en moyenne de  $74 \pm 1 \%$  à  $16 \pm 2 \%$  et tandis qu'elle réaugmente de  $23 \pm 5 \%$  à  $72 \pm 2 \%$  de mars à mai. Étant donné les très faibles pourcentages de lyse observés en hiver, la LT<sub>50</sub> n'a pas pu être estimée pour toutes les dates d'échantillonnage mais seulement à l'automne et au printemps. Tout de même, la température létale où 50% des cellules ont lysé (LT<sub>50</sub>) présente une diminution entre septembre et octobre 2023 et entre octobre et novembre 2024 (Figure 3) avec des valeurs comprises durant ces périodes entre  $-16 \pm 2^\circ\text{C}$  et  $-40 \pm 8^\circ\text{C}$ . Cette LT<sub>50</sub> a ensuite augmenté en avril et en mai présentant des valeurs entre  $-50 \pm 1^\circ\text{C}$  (en avril 2025) et  $-7 \pm 16^\circ\text{C}$ .

La date a possédé un effet significatif sur la lyse maximale et la LT<sub>50</sub> pour les deux hivers (Tableau 2,  $p < 0,05$ ). Cependant, l'essence a eu un effet significatif seulement sur la lyse maximale durant l'hiver 2024-2025 (Tableau 2,  $p = 0,003$ ). Durant cette période, l'épinette noire a présenté une lyse maximale plus élevée que le sapin baumier (Figure 4, variation = 9,83 %). Les traitements de température et de précipitations n'ont présenté aucun effet direct sur la résistance au froid que cela soit pour la lyse maximale ou pour la LT<sub>50</sub> (Tableau 2) malgré la présence de variations relatives entre les traitements (Figure 4). Certaines interactions significatives ont été observés principalement avec la date : date  $\times$  température (hiver 2024-2025) ou date  $\times$  précipitation (hivers 2023-2024 et 2024-2025) ont présenté des effets significatifs sur la lyse maximale (Tableau 2). Aussi, lors de l'hiver 2023-2024, l'interaction entre l'essence et le traitement de précipitation a également présenté un effet significatif sur la lyse maximale (Tableau 2).



**Figure 3** En haut : Température léthale représentant la probabilité de 50% de lyse des cellules ( $LT_{50}$ ) des aiguilles. En bas : Pourcentage de lyse maximale (% lyse) au cours des deux hivers 2023-2024 et 2024-2025 pour les essences épinette noire et sapin baumier et les différents traitements de température et de précipitation. AC : Ambiants Contrôle des précipitations, AS : Ambient Stress hydrique, RC : Réchauffé Contrôle des précipitations, RS : Réchauffé Stress hydrique. La  $LT_{50}$  n'a pas pu être calculer en décembre et en mars des deux hivers, lorsque la lyse maximale était trop faible.



**Figure 4** Variations relatives (%) des moyennes marginales estimées selon les variables physiologiques lors des deux hivers. Le premier graphique du haut présente ces variations entre les essences, l'épinette noire et le sapin baumier (espèce de référence : épinette noire). Le graphique du milieu présente les variations entre les traitements de température : ambient et réchauffé (référence de comparaison). Le troisième et dernier graphique présente quant à lui les variations entre les traitements de précipitations : contrôle et stress hydrique (référence de comparaison).

**Tableau 2** Analyses de modèles mixtes montrant les effets de la date représenté en jour julien (Day of the year DOY), des essences, du traitement de température et du traitement de précipitation sur la température léthale de 50% des cellules (LT<sub>50</sub>, °C), sur la lyse maximale (%), sur l'osmolalité (mOsm/kg H<sub>2</sub>O), le contenu en eau (%), le glucose (m·g dw<sup>-1</sup>), le fructose (mg·g dw<sup>-1</sup>), le saccharose (mg·g dw<sup>-1</sup>), le raffinose (mg·g dw<sup>-1</sup>) et le pinitol (mg·g dw<sup>-1</sup>). Les tirets représentent les interactions qui ont été retirées des modèles afin de les améliorer. Les termes significatifs sont soulignés en caractères gras.

Variables	LT <sub>50</sub>	Lyse <sub>max</sub>	Osmolalité	Contenu en eau	Glucose	Fructose	Saccharose	Raffinose	Pinitol
Effets fixes	<i>p value</i>	<i>p value</i>	<i>p value</i>	<i>p value</i>	<i>p value</i>	<i>p value</i>	<i>p value</i>	<i>p value</i>	<i>p value</i>
<b>2023</b>									
DOY	<b>0.032</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Essence	0.285	0.292	<b>&lt;0.001</b>	0.943	<b>&lt;0.001</b>	0.966	0.258	0.804	0.099
Température	0.225	0.889	0.307	0.594	0.423	0.210	<b>0.020</b>	0.787	0.143
Précipitation	0.442	0.114	0.393	0.558	0.804	0.796	0.229	0.055	0.195
DOY x Température	0.240	0.124	0.642	0.535	-	0.268	<b>0.001</b>	0.106	0.227
DOY x Précipitation	-	<b>0.039</b>	0.943	0.199	-	-	-	-	-
DOY x Essence	0.431	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.002</b>	0.289	-	-	-
Essence x Température	0.211	-	-	-	-	0.879	-	-	-
Essence x Précipitation	-	<b>0.009</b>	-	-	-	-	-	-	-
Température x Précipitation	-	-	-	-	-	0.896	-	-	-
DOY x Température x Essence	0.420	-	-	-	-	<b>0.024</b>	-	-	-
<b>2024</b>									
DOY	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.007</b>
Essence	0.324	<b>0.004</b>	<b>0.009</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.446	<b>0.032</b>	0.139	<b>0.006</b>
Température	0.755	0.853	0.118	<b>0.006</b>	0.335	<b>0.005</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.299	0.491
Précipitation	0.117	0.942	0.469	0.995	0.937	0.465	<b>0.046</b>	0.629	0.427
DOY x Température	0.258	<b>0.022</b>	0.937	0.488	-	0.752	0.093	0.564	0.809
DOY x Précipitation	-	<b>0.029</b>	0.654	0.751	-	-	-	-	-
DOY x Essence	0.984	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.049</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.003</b>	-	-	-
Essence x Température	0.266	-	-	-	-	0.702	-	-	-
Essence x Précipitation	-	0.819	-	-	-	-	-	-	-
Température x Précipitation	-	-	-	-	-	0.184	-	-	-
DOY x Température x Essence	0.157	-	-	-	-	0.165	-	-	-
<b>Indices d'ajustement</b>	AIC	AIC	AIC	AIC	AIC	AIC	AIC	AIC	AIC
Estimation 2023	185.505	-281.812	1733.31	747.32	1024.91	876.72	1103.30	910.90	717.02
Estimation 2024	107.773	-232.477	1409.50	432.88	853.96	733.89	866.02	819.02	619.67

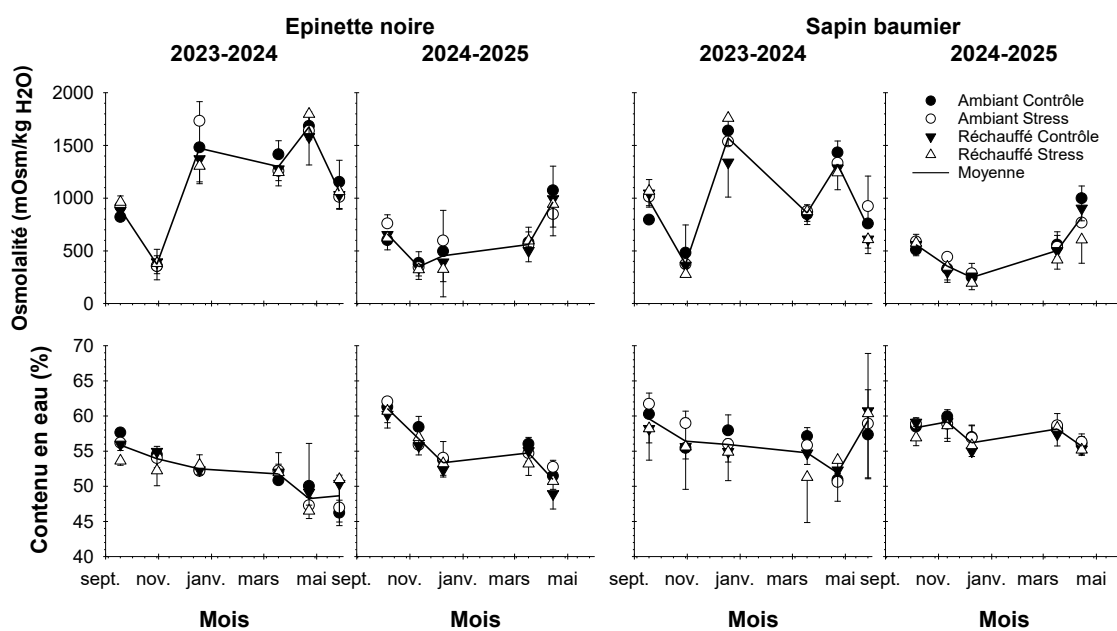
## 2.2 Osmolalité et déficit en eau

L'osmolalité dans les aiguilles n'a pas variée de façon similaire entre les deux hivers étudiés. Durant l'hiver 2023-2024, l'osmolalité des aiguilles a été d'en moyenne  $940 \pm 126$  mOsm/kg H<sub>2</sub>O avant de diminuer de plus de moitié en octobre puis de tripler en décembre. L'osmolalité a ainsi été comprise entre  $372 \pm 21$  mOsm/kg H<sub>2</sub>O et  $1570 \pm 177$  mOsm/kg H<sub>2</sub>O durant cette première partie d'hiver (Figure 5). Durant la seconde partie de l'hiver, l'osmolalité a légèrement diminué en mars avant de réaugmenter en avril puis de diminuer en mai (Figure 5). Durant cette seconde partie de l'hiver, l'osmolalité a été comprise entre  $726 \pm 149$  mOsm/kg H<sub>2</sub>O et  $1676 \pm 92$  mOsm/kg H<sub>2</sub>O. L'osmolalité de l'hiver 2024-2025, n'a pas présenté les mêmes tendances que l'hiver 2023-2024. L'osmolalité a eu une tendance à la baisse dans la première partie de l'hiver avant une augmentation par la suite (Figure 5). Les valeurs d'osmolalité ont été comprises entre  $249 \pm 38$  mOsm/kg H<sub>2</sub>O et  $660 \pm 70$  mOsm/kg H<sub>2</sub>O durant la diminution au début de l'hiver. La hausse de l'osmolalité durant la seconde partie de l'hiver a présenté une valeur maximale moyenne de  $965 \pm 94$  mOsm/kg H<sub>2</sub>O en avril (Figure 5).

Les essences ont également eu un effet significatif sur les valeurs d'osmolalité lors des deux hivers (Tableau 2,  $p < 0,01$ ). Durant ces deux périodes, des valeurs plus élevées d'osmolalités ont été mesurées chez l'épinette noire comparativement au sapin baumier (Figure 4, 2023-2024 variation = 15,07 % ; 2024-2025 variation = 16,79%). L'interaction date  $\times$  essence a également présenté un effet significatif sur l'osmolalité pour les mêmes périodes (Tableau 2,  $p < 0,01$ ) indiquant que les essences ne variaient pas de façon similaire entre les différentes dates d'échantillonnage. Quant aux traitements de température et de précipitations, ils n'ont pas présenté d'effet significatif sur les valeurs d'osmolalité (Tableau 2) malgré des variations relatives présentes entre les traitements (Figure 4).

Le contenu en eau des aiguilles a diminué de façon constante de septembre à décembre avant de se stabiliser entre décembre et mars (Figure 5). Après mars, le contenu en eau a de nouveau diminué en avril avant de réaugmenter en mai. Les valeurs mesurées du contenu en eau étaient comprises entre un maximum de  $61 \pm 1$  % en septembre et un minimum  $48 \pm 2$  % à la fin de l'hiver en avril (Figure 5).

Malgré ces faibles variations, un effet significatif de la date a été observé sur le contenu en eau et ce, pour les deux hivers (Tableau 2,  $p < 0,001$ ). L'essence a aussi présenté un effet significatif sur le contenu en eau lors de l'hiver 2024-2025 (Tableau 2,  $p < 0,001$ ) avec des valeurs plus faibles chez les aiguilles d'épinette que chez les aiguilles de sapin (Figure 4, variation = -3,85%). Lors des deux hivers, une interaction date  $\times$  essence a cependant été calculée, signifiant des variations différentes entre les deux espèces selon la date (Tableau 2,  $p < 0,001$ ). Le traitement de température a eu un effet significatif sur le contenu en eau lors de l'hiver 2024-2025 (Tableau 2,  $p = 0,006$ ) : le traitement réchauffé avait des valeurs plus faibles de contenu en eau comparativement au traitement ambiant (Figure 4, variation = -1,88 %). Le traitement de précipitation seul ou en combinaison avec d'autres facteurs n'a pas présenté d'effet significatif sur le contenu en eau lors des deux hivers (Tableau 2).



**Figure 5** Osmolalité des aiguilles (mOsm/kg H<sub>2</sub>O) et contenu en eau (%) au cours de l'hiver 2023-2024 et 2024-2025 pour les essences épinette noire et sapin baumier et les différents traitements de température et de précipitations. AC : Ambient Contrôle des précipitations, AS : Ambient Stress hydrique, RC : Réchauffé Contrôle des précipitations, RS : Réchauffé Stress hydrique.

### 2.3 Concentration des glucides non-structuraux

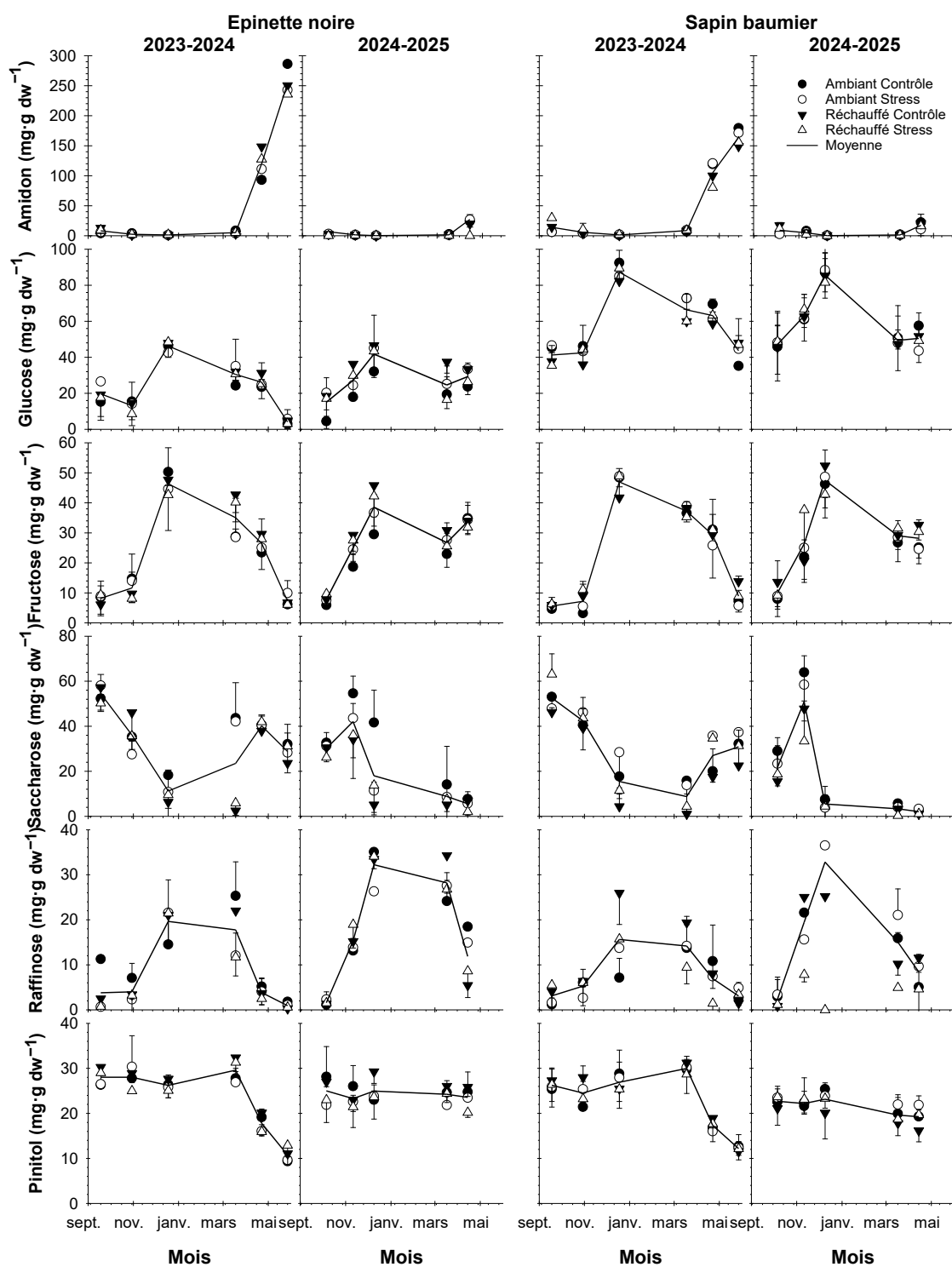
Les concentrations en glucose, en fructose et en raffinose dans les aiguilles des deux espèces ont augmenté durant la première partie de l'hiver (septembre à décembre) avant de connaître une baisse de concentration au printemps (décembre à mai, Figure 6). Les concentrations en glucose ont augmenté entre environ 10 et 90 mg·g dw<sup>-1</sup> entre septembre et décembre. Ces concentrations ont fortement diminué au printemps jusqu'à environ 4 mg·g dw<sup>-1</sup>. Les concentrations en fructose ont été en hausse durant la première partie de l'hiver, entre 5 et 50 mg·g dw<sup>-1</sup>. À l'approche du printemps, elles ont fortement diminué jusqu'à environ 7 mg·g dw<sup>-1</sup>. Les concentrations en raffinose ont-elles été comprises entre 2 et 35 mg·g dw<sup>-1</sup> entre septembre et décembre, avant de subir une forte diminution jusqu'à en moyenne 1 mg·g dw<sup>-1</sup> en mai.

Une tendance inverse aux hexose et raffinose a été mesurée pour le saccharose avec une diminution de concentration durant la première partie de l'hiver avant une augmentation au printemps (Figure 6). Les concentrations en saccharose ont diminué de septembre à décembre fluctuant entre 55 mg·g dw<sup>-1</sup> à 5 mg·g dw<sup>-1</sup> tandis qu'elles ont augmenté au printemps entre environ 2 et 40 mg·g dw<sup>-1</sup>. Contrairement aux autres glucides non-structuraux, les concentrations en pinitol sont demeurées stables de septembre à mars, avec des valeurs comprises entre environ 20 et 30 mg·g dw<sup>-1</sup>. À l'approche du printemps, une forte diminution du pinitol a été observée où les concentrations ont diminué jusqu'à 10 mg·g dw<sup>-1</sup> (Figure 6). Les concentrations en amidon sont demeurées faibles et ont même diminuées durant la première partie de l'hiver avec des valeurs variant de 14 et 1 mg·g dw<sup>-1</sup>. Ces concentrations ont fortement augmenté entre les mois d'avril et de mai, surtout en 2023-2024, avec des concentrations allant jusqu'à 250 mg·g dw<sup>-1</sup> (Figure 6).

En plus de la date (Tableau 2,  $p < 0,01$ ), les essences ont également démontré un effet significatif sur les concentrations en glucides non-structuraux incluant : les concentrations en glucose pour les hivers 2023-2024 et 2024-2025 (Tableau 2,  $p < 0,001$ ), les concentrations en saccharose et en pinitol lors de l'hiver 2024-2025 (Tableau 2,  $p < 0,001$ ). Ainsi lors des deux hivers, des concentrations en glucose au moins deux fois plus faibles élevées ont été mesurées chez l'épinette noire comparativement

au sapin baumier (Figure 4, variation 2023 = -146 % ; 2024 = -114 %). En revanche, des concentrations plus élevées en saccharose, en raffinose et en pinitol ont été mesurées chez l'épinette noire durant l'hiver 2024-2025, (Figure 4, variation saccharose = 20,32 % ; raffinose = 12,40%, pinitol = 11,66 %).

Les traitements de température et de précipitations ont également présenté des effets significatifs sur les concentrations en sucres. Le traitement de température a eu un effet significatif pour les concentrations en saccharose lors des hivers 2023-2024 et 2024-2025, ainsi que pour les concentrations en fructose lors de l'hiver 2024-2025 (Tableau 2,  $p < 0,02$ ). Lors de l'hiver 2024-2025, les traitements réchauffés ont présenté des concentrations en fructose plus élevées que les traitements à température ambiante (Figure 4, variation = 15,58 %). Lors des hivers 2023-2024 et 2024-2025, les traitements réchauffés ont présenté des concentrations en saccharose plus faibles que les traitements à température ambiante (Figure 4, variation 2023 = -18,35 % ; 2024 = -33,84 %). Le traitement de précipitations a eu un effet significatif sur la concentration en saccharose lors de l'hiver 2024-2025 (Figure 6) ou les traitements en stress hydrique ont présenté des concentrations en saccharose plus faibles que les traitements contrôle des précipitations (Figure 4, variation = -18,35 %). Les autres glucides non-structuraux, le pinitol et l'amidon, n'ont pas présenté de différences significatives lié aux traitements (Tableau 2).



**Figure 6** Concentration en amidon, en glucose, en fructose, en saccharose et en raffinose des aiguilles ( $\text{mg}\cdot\text{g dw}^{-1}$ ) au cours de l'hiver 2023-2024 et 2024-2025 pour les essences épinette noire et sapin baumier et les différents traitements de température et de précipitations. AC : Ambient Contrôle des précipitations, AS : Ambient Stress hydrique, RC : Réchauffé Contrôle des précipitations, RS : Réchauffé Stress hydrique.

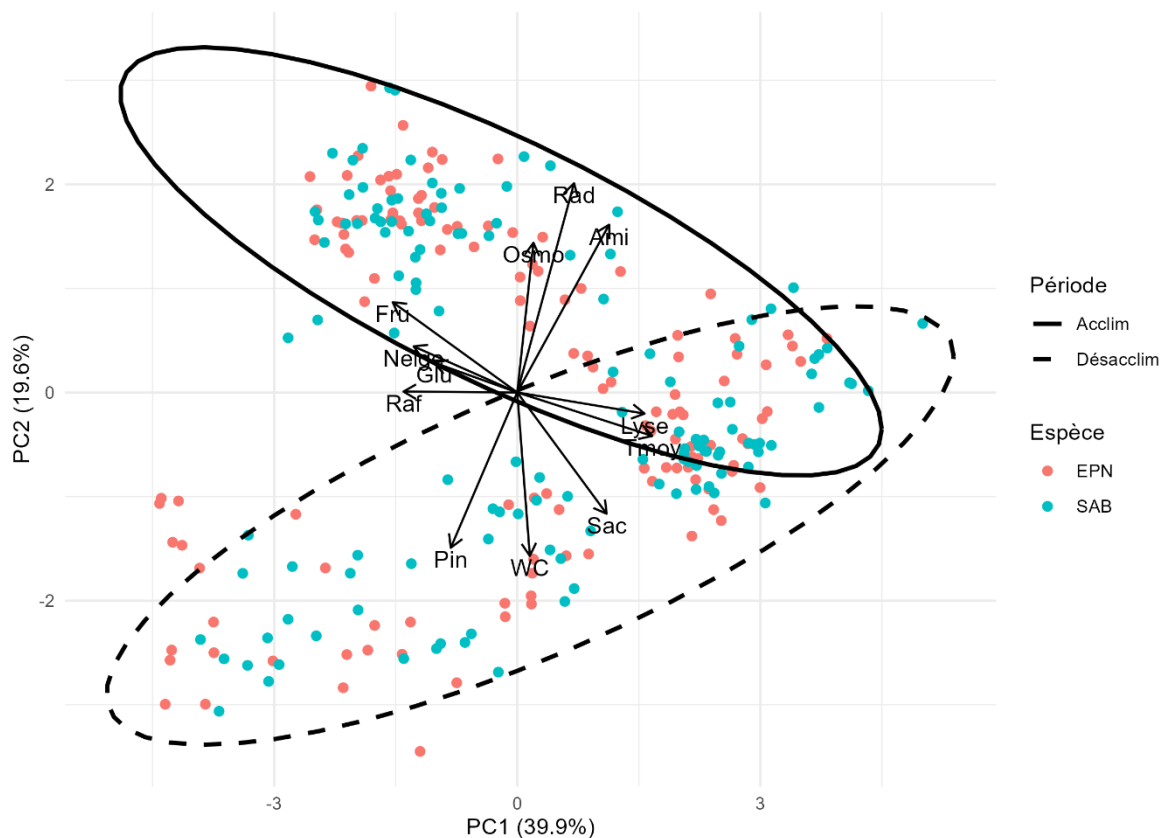
## 2.4 Relations entre les variables physiologiques et les variables environnementales

L'analyse des composantes principales a été utilisée pour explorer les relations entre les variables physiologiques et les variables environnementales selon la période (acclimatation versus désacclimatation) et les espèces (Figure 7). La première composante (PC1) explique 39,9% de la variance totale et reflète un gradient opposant la lyse et la température moyenne, à des variables liées à des conditions plus hivernales tels que la neige au sol et les concentrations en hexose et en raffinose. Les observations situées du côté positif de la PC1 sont caractérisées par des valeurs de lyse maximale et de température moyenne plus importantes. Tandis que celles situées du côté négatif de la PC1 présentent des températures moyennes plus froides, une lyse plus faible, une accumulation plus importante de neige et des concentrations élevées en raffinose et en hexose. Ainsi lorsque les températures sont élevées, la lyse maximale va être importante tandis que le couvert de neige, les concentrations en fructose, glucose et raffinose vont être faibles. La lyse maximale n'est cependant pas reliée au contenu en eau, à la concentration en pinitol, à l'osmolalité ni à la radiation qui se retrouvent principalement sur l'axe PC2. En effet, le deuxième axe (PC2) explique 19,6% de la variance totale, séparant du côté positif l'osmolalité, l'amidon et la radiation et du côté négatif, le pinitol, le contenu en eau et le saccharose. L'osmolalité, la radiation et la concentration en amidon sont positivement reliés, mais négativement corrélés avec le contenu en eau et la concentration en pinitol et en saccharose de façon plus modérée.

L'ellipse Acclimatation se distribue de manière égale sur les parties positives et négatives de l'axe PC1 et majoritairement sur la partie positive de l'axe PC2 (Figure 7). L'ellipse traduit une influence marquée par les variables de température moyenne, de lyse, d'amidon, de radiation, d'osmolalité, de fructose et de neige au sol. Au cours de cette période, la lyse et l'amidon ont été corrélés positivement avec la température moyenne tandis que le fructose et le raffinose ont été corrélés négativement avec celle-ci (Figure 8). Les hexoses et le raffinose ont été corrélés positivement avec le couvert de neige mais inversement pour le saccharose et la lyse (Figure 8). De

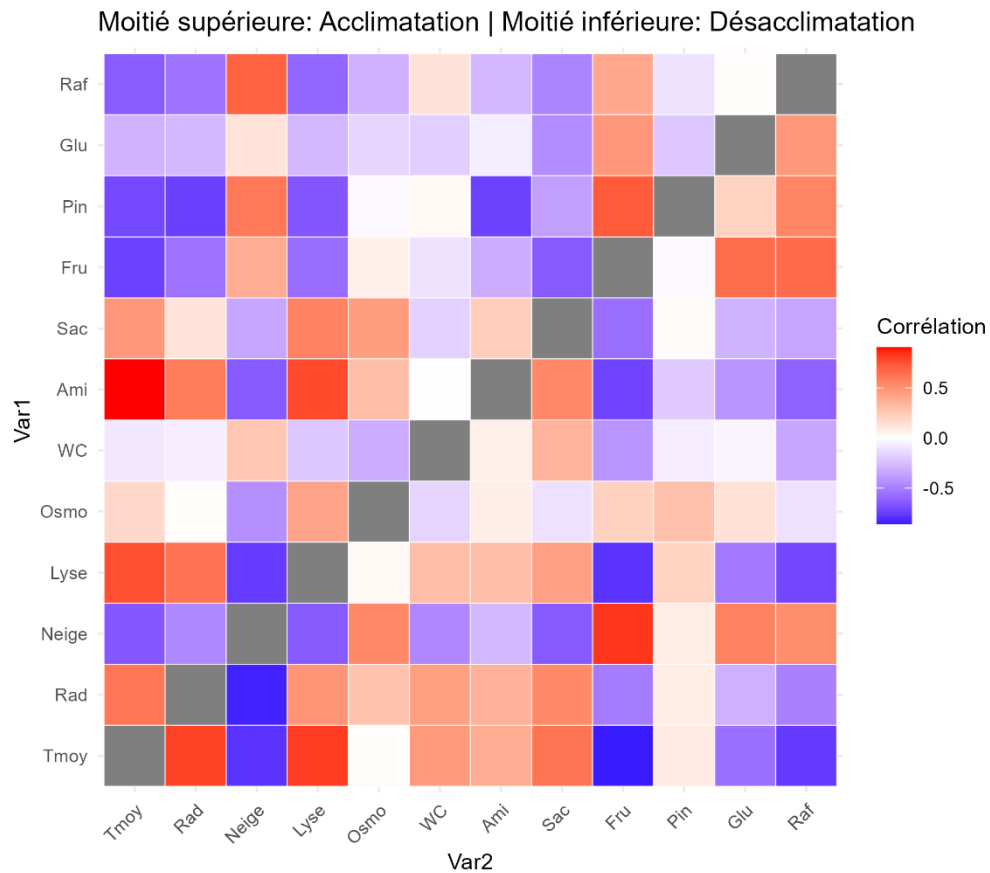
plus, la lyse a été corrélée positivement avec le contenu en eau, l'amidon, le saccharose et le pinitol mais négativement avec le fructose, le raffinose et le glucose (Figure 8).

L'ellipse Désacclimatation est positionnée autant dans la partie positive que négative de l'axe PC1 et principalement dans la partie négative de la PC2 (Figure 7). Cette position traduit un profil corrélé avec les variables de contenu en eau, de pinitol et de saccharose mais également de lyse et de température moyenne. Durant cette période, l'amidon et le saccharose ont été corrélés positivement avec la température moyenne mais négativement avec le fructose, le pinitol et le raffinose (Figure 8). Le couvert de neige a montré une corrélation positive avec le pinitol et le fructose mais négative avec la lyse, l'amidon et l'osmolalité (Figure 8). La lyse a été positivement reliée avec l'amidon, le saccharose et l'osmolalité mais négativement avec le pinitol, le raffinose et le fructose (Figure 8).



**Figure 7** Analyse des composantes principales des variables physiologiques et environnementales selon la période : Acclimatation (Acclim) et désacclimatation (Désacclim) et l'espèce : épinette noire (EPN) et sapin baumier (SAB). Variables physiologiques : Lyse ; Osmolalité (Osmo) ; Contenu en eau (WC) ; Fructose (Fru) ;

Glucose (Glu) ; Raffinose (Raf) ; Saccharose (Sac) ; Amidon (Ami). Variables environnementales : Température moyenne (Tmoy) ; Couvert de neige (Neige) ; Radiation (Rad).



**Figure 8** Matrice de corrélation illustrant les coefficients de corrélation entre les variables physiologiques mesurées et les variables environnementales. La moitié supérieure de la matrice représente les coefficients de corrélation pendant la phase d'acclimatation, tandis que la moitié inférieure correspond à la phase de désacclimatation. Les coefficients de corrélation varient entre -1 et +1 sont représentés par un dégradé de couleurs allant du bleu (corrélation négative) au rouge (corrélation positive). Variables environnementales : Température moyenne (Tmoy) ; Couvert de neige (Neige) ; Radiation (Rad). Variables physiologiques : Lyse ; Osmolalité (Osmo) ; Contenu en eau (WC) ; Fructose (Fru) ; Glucose (Glu) ; Raffinose (Raf) ; Saccharose (Sac) ; Amidon (Ami).

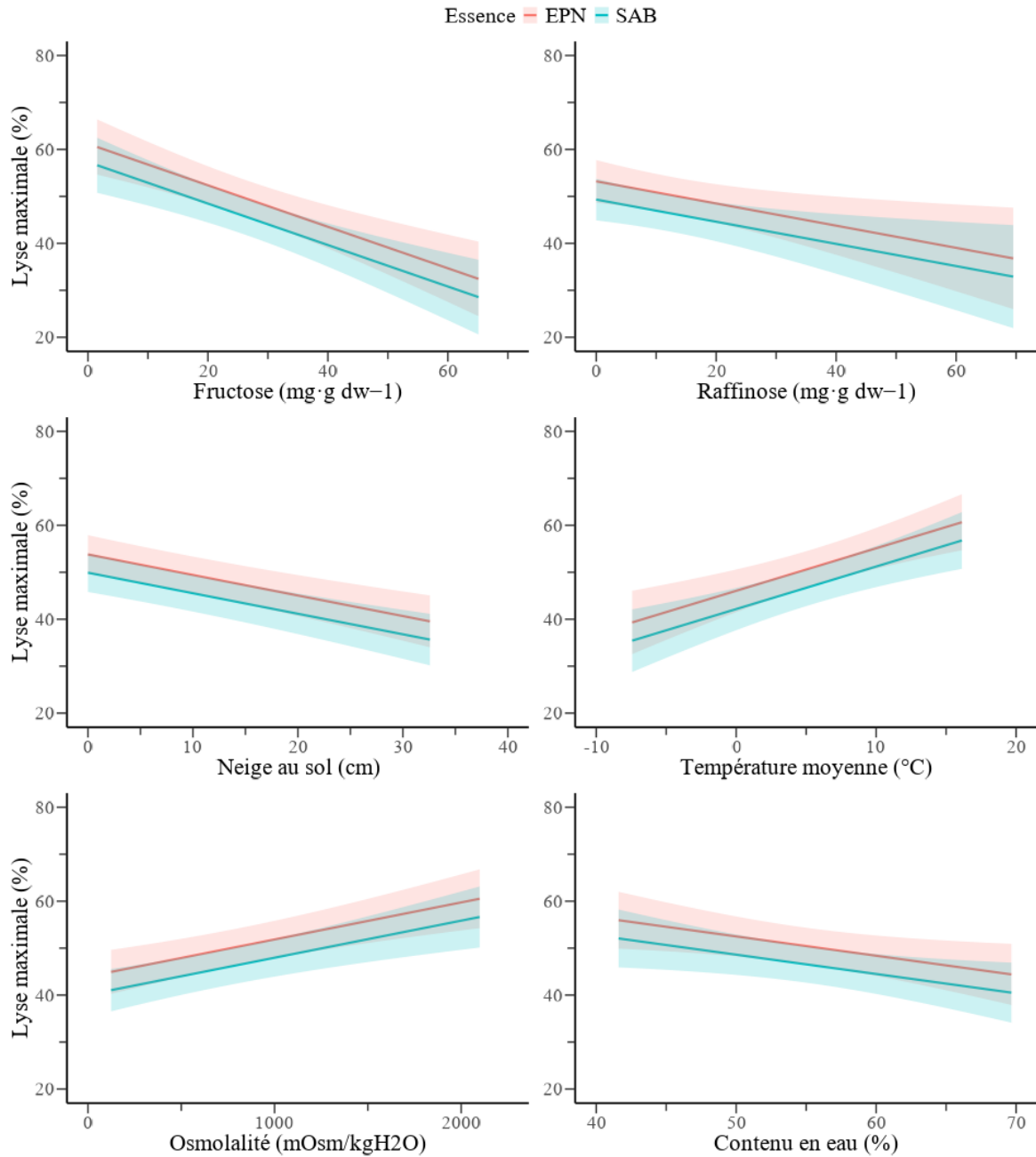
## 2.5 Modèle explicatif de la résistance au froid par la lyse maximale

Le meilleur modèle expliquant la lyse maximale a souligné les effets significatifs de la concentration en fructose, en raffinose, du contenu en eau et de l'osmolalité (Tableau 3,  $p < 0,01$ ). Les variables environnementales telles que la température moyenne de l'air et la couverture neigeuse ont également eu des effets significatifs sur la lyse maximale. L'essence et le traitement n'ont pas présenté des effets significatifs lors de l'analyse de variance du modèle (Tableau 3,  $p > 0,05$ ).

**Tableau 3** Analyses de la variance d'un modèle linéaire mixte montrant les effets de l'osmolalité, du contenu en eau, des concentrations en fructose et en raffinose, des variables environnementales tels que la température moyenne (Tmoyenne) et le couvert de neige (Neige), de l'essence et des traitements sur la lyse maximale. Les termes significatifs sont soulignés en caractères gras.

<b>Variabiles</b>	<b>Lyse maximale</b>
Effets fixes	p-value
Osmolalité	<b>&lt;0.0001</b>
Contenu en eau	<b>0.0081</b>
Fructose	<b>&lt;0.0001</b>
Raffinose	<b>&lt;0.0001</b>
Tmoyenne	<b>&lt;0.0001</b>
Neige	<b>&lt;0.0001</b>
Essence	0.9881
Traitement	0.1307
Essence x Traitement	0.3498
AIC	2024.3

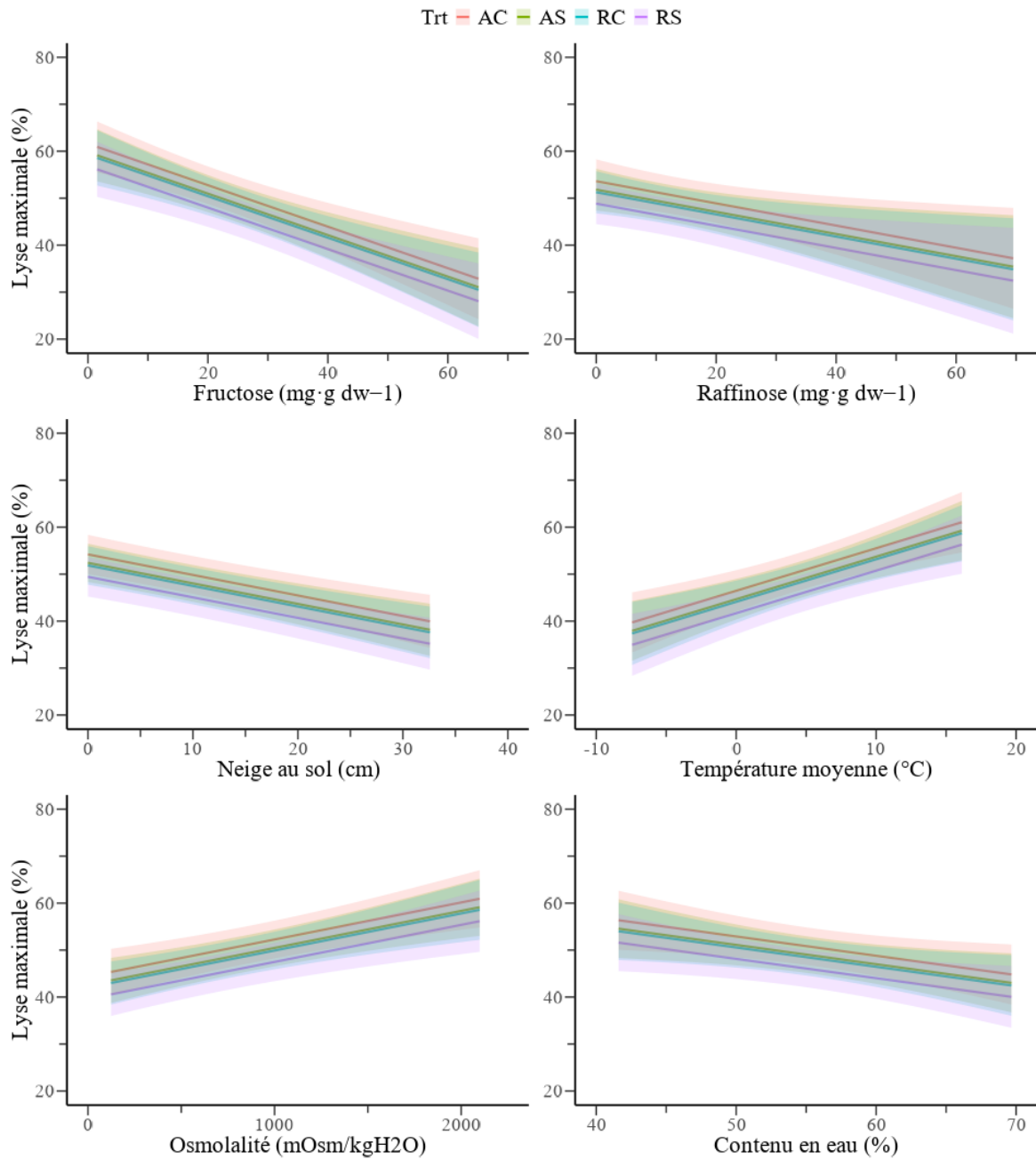
Les prédictions issues du modèle montrent qu'une augmentation de la concentration en fructose et en raffinose causera une diminution de la lyse maximale et ce, pour les deux espèces (Figure 9). La lyse maximale va diminuer lors d'une augmentation du contenu en eau et d'une augmentation du couvert de neige. La lyse va cependant augmenter lors d'une augmentation de l'osmolalité ainsi que lors d'une hausse des températures de l'air. Il n'y a pas de différences significatives entre les essences (Tableau 3).



**Figure 9** Prédications de la lyse maximale (%) en fonction de la concentration en fructose et en raffinose, de l'osmolalité et du contenu en eau et des variables environnementales pour chaque espèce et se basant sur le modèle GLS. La ligne en rouge représente les prédictions pour l'épinette noire (EPN) et celle en bleu représente celle du sapin baumier (SAB).

Les prédictions par traitement montrent les mêmes tendances que les prédictions par essence (Figure 10). Comme énoncé précédemment, elles indiquent que la lyse maximale diminue lorsque la concentration en fructose et en raffinose, le couvert de neige et le contenu en eau augmente, que la

température moyenne de l'air et l'osmolalité diminue (Figure 10). Malgré les traitements n'ont pas présenté d'effets non-significatifs (Tableau 3,  $p > 0,05$ ), le traitement ambiant avec 100% des précipitations (AC) présente généralement les valeurs prédites de lyse maximale les plus élevées, suivies du traitement ambiant en stress hydrique (AS), puis du traitement réchauffé en contrôle des précipitations (RC) et pour finir du traitement réchauffé avec stress hydrique (RS).



**Figure 10** Prédications de la lyse maximale (%) en fonction de l'osmolalité, de la concentration en sucres et des variables environnementales pour chaque traitement et ce en se basant sur le modèle GLS. Le traitement ambiant avec contrôle des précipitations (AC) est présenté en rouge, le traitement ambiant avec stress hydrique (AS) en vert, le traitement réchauffé avec un contrôle des précipitations (RC) en bleu et le traitement réchauffé en stress hydrique (RS) en violet.

## CHAPITRE 3 DISCUSSION

### 3.1 Tendances temporelles

#### 3.1.1 Résistance au froid

La température létale où 50% de lyse cellulaire est observée ( $LT_{50}$ ) a été impossible à estimer dans les aiguilles des espèces étudiées, surtout durant les mois de décembre à mars pour les deux hivers concernés (2023-2024 et 2024-2025). Malgré le fait que la température minimale du congélateur à descente contrôlée a été atteinte lors de la seconde année d'expérimentation ( $-150^{\circ}\text{C}$ ), le calcul de la  $LT_{50}$  n'a pas été possible dû à une lyse trop faible des cellules du mésophylle foliaire. En effet, les valeurs de lyse sont restées inférieures à 50% de décembre à mars, toutefois cela ne signifie pas que la  $LT_{50}$  était inférieure à  $150^{\circ}\text{C}$ . Il semble donc que les aiguilles de l'épinette noire et du sapin baumier résistent ainsi à des températures bien inférieures au minimum des températures de l'air enregistré à la surface de la Terre ( $-89.2^{\circ}\text{C}$ , *Vostok station Antarctica*, Turner *et al.* (2009)). Durant les tests, le refroidissement graduel a été fixé selon les limites de l'appareil, soit à  $-6^{\circ}\text{C}$  par heure. Selon plusieurs auteurs, un refroidissement plus lent est recommandé, de  $-1$  à  $-4^{\circ}\text{C}$  par heure, afin d'être plus réaliste aux variations environnementales naturelles (Sakai et Larcher 1987; Tranquillini 2012; Arora 2025), mais également pour augmenter la robustesse des données. En effet, un refroidissement trop brusque amène une formation trop rapide de glace intracellulaire, empêchant ainsi une libération graduelle de l'eau et du contenu cellulaire à travers la membrane (Körner et Riedl 2012), phénomène permettant la mesure de la conductivité et donc de la lyse cellulaire (Dexter *et al.* 1932; Palta et Li 1980). Malgré cette recommandation, un refroidissement d'environ  $-5^{\circ}\text{C}$  par heure est généralement la norme (Charrier *et al.* 2018a; Mura *et al.* 2025b), ce qui se rapproche de la valeur utilisée dans cette étude ( $-6^{\circ}\text{C}$  par heure). La durée de gel peut également avoir un impact sur la résistance au froid, en effet, une durée de gel trop courte lors des tests de résistance au froid peut

mener à une sous-estimation des dommages induits par le gel conduisant ainsi à une surestimation de la  $LT_{50}$  (Arora 2025).

La lyse maximale (%) de chaque arbre échantillonné a donc été utilisée, à la place du  $LT_{50}$ , comme variable quantitative de la résistance au froid. Cette variable est d'ailleurs utilisée sous le terme de conductivité relative (Aronsson *et al.* 1976). L'impossibilité à estimer la  $LT_{50}$  chez les conifères boréaux concorde avec la capacité de résistance des bourgeons, des aiguilles et des tiges du sapin et de l'épinette à survivre à des températures de  $-80^{\circ}\text{C}$  (Sakai et Weiser 1973). Chez l'épinette noire, aucun dommage à  $-80^{\circ}\text{C}$  a été observé dans les aiguilles et les tiges, concordant avec les résultats obtenus pour les aiguilles dans la présente étude. En revanche, la  $LT_{50}$  des bourgeons de l'épinette noire a été estimée à  $-50^{\circ}\text{C}$ , mais une absence de dommages à  $-80^{\circ}\text{C}$  a aussi été observée selon la localisation géographique (Sakai et Weiser 1973). Des résultats similaires ont été obtenus chez le sapin baumier où les aiguilles et les tiges présentent une capacité à survivre à une immersion dans de l'azote liquide ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) (Sakai et Weiser 1973). Les valeurs de lyse inférieures à 50% observées de décembre à mars pour les deux essences étudiées indiquent une absence de réponse aux températures très froides imposées lors des tests de congélation ( $< -80^{\circ}\text{C}$ ). En janvier, de faibles valeurs de lyse (27%) ont aussi été mesurées dans les bourgeons du pin cembro (*Pinus cembra* L.) (Buchner et Neuner 2011). Cette forte résistance au froid des organes aériens est aussi observée chez d'autres espèces de conifères des milieux boréaux froids, comme l'épinette blanche (*Picea glauca* (Moench) Voss) et le pin gris (*Pinus banksiana* Lamb.), mais également pour les bourgeons et les tiges d'espèces décidues tels que le mélèze laricin (*Larix laricina* (Du Roi) K. Koch) et le bouleau à papier (*Betula papyrifera* Marsh.) (Sakai et Weiser 1973).

Bien que les résultats de cette étude démontrent une acclimatation classée « *extrême low temperature* » (Strimbeck *et al.* 2015) au plus fort de l'hiver, des dommages ont toutefois été observés au début de la période d'acclimatation et à la fin de la période de désacclimatation. Durant ces périodes, des lyses importantes ont été détectés permettant ainsi l'estimation de la  $LT_{50}$ . Ces conditions ont permis, une estimation de la  $LT_{50}$  avec des valeurs de résistance variant entre -16 et

-40°C durant l'acclimatation (de septembre à novembre) et entre -50 et -7°C durant la désacclimatation (de mars à mai). Les résultats de cette étude ont également montré qu'il n'y a pas eu de différences dans cette estimation de la  $LT_{50}$  entre les espèces et les traitements durant les mois d'automne et de printemps. Cependant, la lyse maximale a présenté des différences significatives entre les essences : l'épinette noire a eu des pourcentages de lyse plus élevés (donc moins résistante) comparativement au sapin baumier. Cela est d'ailleurs contre intuitif étant donnée la distribution plus nordique de l'épinette noire (Lamhamedi et Bernier 1994).

### 3.1.2 Osmolalité et déficit en eau

De septembre à mars, une faible diminution du contenu en eau a été observé, atteignant un minimum d'environ 48% au début du printemps entre avril et mai, correspondant aux résultats d'autres études (Little 1970; Marchand et Chabot 1978). Cette faible diminution du contenu en eau en hiver peut être due à la présence de neige sur le feuillage, qui ralentit la perte en eau des aiguilles (Kuhn 2012), la neige étant évaporée ou sublimée avant l'eau contenue dans le feuillage. Tel que suggéré par des études plus anciennes (Tranquillini et Platter 1983), la transpiration cuticulaire peut être faible chez les conifères en hiver car l'absorption de l'eau et son transport sont fortement inhibés durant cette période, contribuant ainsi à une meilleure résistance à la sécheresse provoqué par le froid (Anfodillo *et al.* 2002). La diminution de la teneur en eau des tissus à l'hiver peut également être due à des conditions atmosphériques imposant une forte demande évaporative (Kleinendorst et Brouwer 1972). Dans les cellules vivantes, une déshydratation hivernale est nécessaire afin de limiter la formation de glace intracellulaire. Ce mécanisme est différent chez les cellules non vivantes, telles que les trachéides du xylème, qui sont susceptibles de subir de la cavitation (i.e. formation de bulles d'air dans les conduits), entraînant une embolie, c'est-à-dire une perte de fonction du xylème (Cavender-Bares 2005). Lors de stress hydriques trop importants, ces embolies du xylème peuvent être conséquentes, toutefois les conifères ont une bonne capacité à les résorber (Sperry 1993; Mayr *et al.* 2014; Mayr *et al.* 2019; Losso *et al.* 2021). Au printemps, le dégel permet le retour des mouvements de l'eau du xylème depuis les racines vers les tiges et les feuilles tandis qu'une certaine

absorption d'eau provenant de la fonte via l'écorce des tiges peut aussi être possible (Katz *et al.* 1989; Mayr *et al.* 2014; Losso *et al.* 2021). Cependant, le contenu en eau est encore très faible jusqu'à la croissance du nouveau feuillage.

Malgré la faible diminution du contenu en eau durant l'hiver, l'osmolalité des aiguilles n'a pas nécessairement suivi la même tendance entre les deux hivers : en 2023-2024, l'osmolalité a augmenté en hiver avant de diminuer au printemps tandis que pour l'hiver 2024-2025, l'osmolalité a diminué lors des mois les plus froids avant de réaugmenter au printemps. L'augmentation de l'osmolalité durant l'hiver 2023-2024, est le résultat qui est souvent retrouvé lors de l'acclimatation au froid des végétaux comme pour les noyers (Améglia *et al.* 2004) et les pommiers (Pramsohler et Neuner 2013). En effet, à cause de la diminution du contenu en eau, des ajustements osmotiques sont attendus, résultant à l'augmentation de solutés osmotiquement actifs (Sakai et Larcher 1987) et donc à une augmentation de l'osmolalité des solutions intracellulaire. En été, il a été démontré que l'osmolalité du phloème dépend principalement de la teneur en eau des tissus chez les espèces *Populus tremula* L., *Betula pendula* Roth. et *Picea abies* L. Karst. (Lintunen *et al.* 2016). Ces résultats sont également en accord avec les baisses de potentiels osmotiques ( $\Psi_s$ ) observées lors de stress hydriques provoqués, indiquant ainsi une capacité d'ajustement osmotique rapide chez plusieurs conifères boréaux (Buxton *et al.* 1985). D'un autre côté, la diminution de l'osmolalité durant l'hiver 2024-2025 pourrait s'expliquer par le besoin que possède les cellules à ne pas se réhydrater (ne pas attirer d'eau) pendant l'hiver afin d'éviter le gel. Cette tendance à la diminution de l'osmolalité (augmentation du potentiel osmotique) en hiver a été observée dans la sève cellulaire de *Pinus cembra* L. lors d'une diminution du contenu en eau (Tranquillini 1957). Bien que ce résultat soit plus difficile à interpréter, des mesures supplémentaires sont nécessaire pour mieux clarifier, comprendre et expliquer les tendances hivernales.

### 3.1.3 Concentration en glucides non-structuraux

La concentration en amidon a été très faible durant l'hiver car ce composé est généralement métabolisé en sucres solubles en raison de la baisse de température (Sakai 1966), ce qui correspond aux autres résultats observés dans les aiguilles d'un an de sapin baumier (Little 1970) ou dans d'autres organes aériens des espèces des milieux froids (Fischer et Höll 1992; Schaberg *et al.* 2000; Simard *et al.* 2013; Mayr *et al.* 2019). Suite à l'hiver 2023-2024, une forte augmentation de la concentration en amidon est observée entre avril et mai chez les deux essences boréales étudiées, concordant avec une augmentation de l'amidon dans les aiguilles des conifères au printemps juste avant l'ouverture des bourgeons (Rutter 1957; Little 1970; Senser *et al.* 1975; Schaberg *et al.* 2000; Bansal et Germino 2009; Deslauriers *et al.* 2014; Mayr *et al.* 2014; Mayr *et al.* 2019). Pour l'hiver 2024-2025, l'absence de l'augmentation de la concentration en amidon est probablement due à des températures mensuelles moyennes plus faibles en mars et avril 2025 ( $-3,36 \pm 5,73$  °C ;  $3,65 \pm 4,40$  °C, respectivement) comparativement aux mêmes mois durant l'hiver 2023-2024 ( $-1,08 \pm 4,74$  °C en mars;  $5,22 \pm 3,17$  °C en avril). En effet, une augmentation des températures induit une diminution de l'activité enzymatique nécessaire à la dégradation de l'amidon (Elle et Sauter 2000). Cependant, nous ne pouvons pas exclure que l'absence d'augmentation de la concentration en amidon à la fin de l'hiver 2024-2025 puisse être due à l'absence d'une date d'échantillonnage au mois de mai.

Le saccharose est le seul sucre soluble mesuré dont la concentration diminue en hiver dans les aiguilles des deux conifères étudiés, passant d'environ  $53 \text{ mg} \cdot \text{g dw}^{-1}$  en septembre à des valeurs minimales d'environ  $10 \text{ mg} \cdot \text{g dw}^{-1}$  entre décembre et janvier avant de réaugmenter au printemps. Ce résultat contraste avec les observations déjà obtenues pour les aiguilles du sapin baumier, où une augmentation de la concentration en saccharose a été retrouvée entre septembre et décembre, suivie d'une diminution de janvier à avril (Little 1970). Des augmentations hivernales en saccharose ont également été observées dans les parties aériennes de conifères (Aronsson *et al.* 1976; Ericsson 1979; Höll 1985; Sleptsov *et al.* 2023). Selon ces études, les fortes concentrations hivernales en saccharose pourraient être liées au ralentissement de la photosynthèse résultant des baisses de température et de la réduction de la photopériode, ce qui activerait le processus de transport du

saccharose des organes non photosynthétiques aux aiguilles (Sleptsov *et al.* 2023). Ce transport permettrait ainsi de maintenir les processus métaboliques jusqu'à la transition complète vers la dormance hivernale (Sleptsov *et al.* 2023). À l'inverse, la diminution de la concentration en saccharose observée dans notre étude pendant l'hiver pourrait être expliquée par la dégradation du saccharose par l'action des invertases, les enzymes qui hydrolysent cette molécule en glucose et en fructose (Lunn 2016). Cette dégradation du saccharose expliquerait ainsi l'augmentation de la concentration d'hexoses observée en hiver dans les aiguilles des conifères étudiés. Ces augmentations sont similaires à ce qui a déjà été observé dans les parties aériennes d'espèces de régions froides (Little 1970; Ericsson 1979; Höll 1985; Fischer et Höll 1992; Harms et Sauter 1992) à l'automne mais également du sapin Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) lors de stress hydrique (Woodruff 2014). Au printemps, l'augmentation des températures et la fonte de la neige présente sur les aiguilles pourraient initier la reprise des processus métaboliques actifs et énergiquement coûteux menant à la consommation des monosaccharides accumulés dans les aiguilles à l'hiver pour reformer du saccharose (Sleptsov *et al.* 2023).

De la même manière que les hexoses, les concentrations en raffinose ont augmenté en hiver puis diminué au printemps dans les aiguilles des deux conifères étudiés. Ces variations concordent avec les tendances décrites dans les parties aériennes d'espèces adaptées aux régions froides (Little 1970; Höll 1985; Fischer et Höll 1992; Hinesley *et al.* 1992). L'augmentation de la concentration en oligosaccharides de la famille des raffinoses (RFOs) en hiver peut s'expliquer par la synthèse de ceux-ci, principalement réalisée par la voie dépendante du galactinol. Lors de cette synthèse, l'enzyme raffinose synthase catalyse la formation de raffinose à partir de galactinol et de saccharose (Peterbauer *et al.* 2002b). La formation de RFOs de plus grande taille s'effectue par transfert d'un résidu galactosyle du galactitol vers le raffinose pour obtenir un stachyose puis de galactinol vers le stachyose pour obtenir le verbascose (Peterbauer *et al.* 2002a). Nos concentrations en raffinose comportent d'ailleurs l'ensemble des sucres de cette famille (RFOs).

Les concentrations en pinitol obtenues chez les espèces étudiées ont été constantes à environ 25 mg·g dw<sup>-1</sup> de septembre à mai avant de diminuer au printemps 2024 à environ 10 mg·g dw<sup>-1</sup>. Il est souvent reporté que les concentrations en pinitol augmentent lors de l'acclimatation des aiguilles de *Pinus sylvestris* L. (Ericsson 1979; Sleptsov *et al.* 2023) ou de la zone du collet *Trifolium pratense* L. (Bertrand *et al.* 2020). Pour les aiguilles de *Pinus sylvestris* L., l'augmentation de sa concentration apparaît lors que la température de surface des aiguilles commence à diminuer et inversement au printemps (Sleptsov *et al.* 2023), ce qui est un des mécanismes de protection majeurs contre les stress dues à des températures négatives. La diminution de la concentration en pinitol au printemps pourrait s'expliquer par le transfert du pinitol des vieilles aiguilles aux bourgeons au printemps pour la croissance des nouvelles aiguilles (Deslauriers *et al.* 2025). L'absence de diminution de la concentration en pinitol au printemps 2025, peut s'expliquer par des températures plus froides qu'à l'hiver précédent, retardant ainsi le transfert de ce composé dans les bourgeons mais aussi à l'absence d'échantillonnage en mai 2025.

### **3.2 Influence des essences et des traitements sur les variables physiologiques mesurées**

Des différences significatives ont été identifiées entre les deux espèces étudiées. Les valeurs de lyse, d'osmolalité ainsi que la concentration en saccharose et en pinitol étaient plus élevées chez l'épinette noire que chez le sapin durant au moins un hiver d'échantillonnage. En contrepartie, le sapin a montré des valeurs de contenu en eau ainsi que des concentrations en glucose significativement plus élevées que l'épinette noire (Tableau 4). Les proportions en hexose diffèrent entre les deux espèces, le sapin a une concentration significativement plus élevée en glucose, tandis que la concentration fructose est plus similaire entre les espèces, sans effet significatif. Ces résultats concordent avec l'effet de ces espèces sur la concentration en glucose et en fructose des aiguilles (Deslauriers *et al.* 2025). Les autres variables physiologiques mesurées, telles que la LT<sub>50</sub> et la concentration en fructose et en raffinose n'ont pas été statistiquement différents entre les essences durant aucun des deux hivers échantillonnés.

Les valeurs de lyse maximale plus élevées, donc un peu moins résistantes au froid, chez l'épinette noire sont étonnantes, car la distribution de l'épinette s'étend plus au nord et forme la limite des arbres dans les latitudes élevées (Lamhamedi et Bernier 1994). Malgré le fait que cela peut s'expliquer par la grande variabilité de la réponse à la résistance au froid entre différentes espèces (Neuner 2014), l'espèce n'était pas significative dans le modèle comportant l'ensemble des variables climatiques et physiologiques et démontrait les mêmes tendances : nous avons donc conclu que les deux espèces démontrent ainsi des capacités assez similaires de réponses au froid.

Les traitements de température et de précipitations n'ont pas eu les mêmes effets sur les variables physiologiques étudiées, mais en général, les effets des traitements étaient marginaux et non significatifs dans le modèle explicatif. Bien que les traitements de température et de précipitations n'aient pas montré d'effet significatif direct sur la lyse maximale, cette dernière avait tendance à diminuer à température ambiante et sous exclusion de pluie (*voir figure 4*), et donc augmentait la résistance au froid. Les effets des traitements suggèrent une tendance partielle en faveur de l'hypothèse selon laquelle le réchauffement et le stress hydrique pourraient induire une meilleure résistance au froid, associée à un contenu en eau plus faible et une concentration en sucres plus élevée. En effet, le traitement réchauffé a induit une diminution significative du contenu en eau et une augmentation significative de la concentration en fructose. Toutefois, ce réchauffement a induit une diminution significative de la concentration en saccharose et une lyse plus forte lors de certaines dates, donc une résistance au froid inférieure à celle des traitements ambiants, contrairement à notre hypothèse. Le traitement de stress hydrique a induit une diminution significative de la lyse maximale (à certaines dates) répondant ainsi de façon partielle à notre hypothèse. Ce traitement de stress hydrique a également induit une diminution significative de la concentration en saccharose contrairement à notre hypothèse. Même si les traitements ont induit certaines réponses physiologiques compatibles avec une plus grande résistance au froid, l'hypothèse d'une réduction généralisée de la lyse maximale sous réchauffement et/ou stress hydrique ne peut pas être acceptée. Ces résultats s'expliquent possiblement par des variations dans les conditions climatiques entre les

deux années d'étude (voir *Matériel et méthodes 1.1*), variations qui influencent normalement la réponse des plantes au froid (Buchner et Neuner 2011; Neuner 2014) (voir *Discussion 3.3*).

**Tableau 4** Synthèse des effets des essences et des traitements de température et de précipitation sur les variables physiologiques. Les cases présentées en rouge présentent un estimé supérieur de la variable physiologique comparativement à la case bleue de l'essence ou du traitements associé. Les cases présentées en couleur plus clairs présentent des effets significatifs de l'interaction entre le traitement et le temps représenté par le jour julien ou Day of the Year (DOY). Les termes qui n'ont pas présenté de différences significatives entre les essences ou les traitements sont indiqués par le sigle NS.

Variables physiologiques	Essence		Traitement			
	Épinette noire	Sapin baumier	Température		Précipitation	
			Ambiant	Réchauffé	Contrôle	Stress
LT <sub>50</sub>	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Lyse maximale			DOY	DOY	DOY	DOY
Osmolalité			NS	NS	NS	NS
Contenu en eau					NS	NS
Glucose			NS	NS	NS	NS
Fructose	NS	NS			NS	NS
Saccharose						
Raffinose	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Pinitol			NS	NS	NS	NS

### 3.3 Influence des facteurs environnementales et physiologiques sur le pourcentage de lyse

La température de l'air et le couvert de neige sont les deux paramètres environnementaux qui ont montré un effet significatif sur la lyse maximale des essences étudiées : plus les températures sont froides avec un bon couvert de neige, plus le pourcentage de lyse est faible. La température de

l'air et le couvert de neige représentent donc deux facteurs environnementaux influençant la lyse des cellules et donc la résistance au froid. Il a été démontré que l'acclimatation au froid est régulée par la diminution des températures de l'air (Weiser 1970; Sakai et Larcher 1987; Charrier et Améglio 2011) ainsi que par la photopériode dans certains cas (Bigras et D'aoust 1992; Bigras et D'Aoust 1993; Calmé *et al.* 1993). Les augmentations de températures au printemps présentent également un effet sur le débourrement, causant la perte de résistance au froid (Charrier *et al.* 2011; Kovaleski *et al.* 2018; Kovaleski 2022; North *et al.* 2022). Le couvert de neige est également un bon prédicteur de la lyse maximale pour les espèces étudiées. Selon les résultats de l'étude, l'augmentation du couvert de neige va ainsi augmenter la résistance au froid, contrairement avec son effet de protection contre le froid souvent évoqué dans la littérature (Sakai et Larcher 1987; Neuner 2014).

L'effet significatif de la température de l'air sur la lyse maximale et la résistance au froid peut être dû à son effet sur la conversion de l'amidon en sucres solubles. En effet, les changements de concentrations en sucres solubles peuvent être reliés à des changements d'activités des enzymes liées à la dégradation de l'amidon tels que l' $\alpha$ -amylase et l'amidon phosphorylase qui sont activées à de faibles températures et *vice versa* (Elle et Sauter 2000). Tel que décrit précédemment, ces changements d'activités enzymatiques expliquent ainsi la faible concentration en amidon et la forte concentration en sucres durant l'hiver. En effet, le modèle prédictif, autant chez le sapin baumier que chez l'épinette, montre que des concentrations élevées en fructose et en raffinose diminuent significativement la lyse. Les concentrations de ces sucres sont connues pour augmenter la résistance au froid (Taïbi *et al.* 2018; Shen *et al.* 2022; Li *et al.* 2023). Les sucres solubles notamment les polysaccharides tels que le saccharose et les sucres de la famille du raffinose (RFOs comprenant aussi le stachyose et le verbascose) agissent comme des agents osmoprotecteurs contre les dommages membranaires et peuvent être utilisés dans l'élimination des composés réactifs à l'oxygène (reactive oxygen species ROS) démontrant leur rôle antioxydant (Lineberger et Steponkus 1980; Nishizawa *et al.* 2008; Peshev *et al.* 2013) lors de stress liés au gel ou de déshydratation cellulaire. De par leur réaction avec les radicaux OH, les polysaccharides sont partiellement dégradés en sucre de plus petite taille (Peshev *et al.* 2013), pouvant expliquer l'importance de la concentration

en glucose et en fructose et non en saccharose chez l'épinette et le sapin. De façon similaire, une augmentation de la concentration en fructose a été observée lors de stress liés à l'exposition au froid et présentait également des propriétés antioxydantes (Bogdanović *et al.* 2008).

De nombreuses études montrent des relations entre la mise en place de la résistance au froid avec une augmentation de concentration en solutés dissous et une diminution du contenu en eau chez les plantes pérennelles (Guy 1990; Charrier *et al.* 2013; Charrier *et al.* 2015). Dans notre étude, une diminution de la lyse a été liée à une augmentation en contenu en eau : cependant ces résultats représentent l'inverse de la réponse attendue : en effet chez de nombreuses espèces conifères (e.g. *Picea glauca*, *Pinus banksiana*, *Picea abies*, *Larix sibirica* et *Pinus sylvestris*), un plus faible contenu en eau a été associé à une plus forte résistance au froid (Calmé *et al.* 1993; Zwiazek *et al.* 2001). Les résultats obtenus dans les placettes du T-Face sont donc contre-intuitifs car une plus forte concentration en eau peut se transformer en glace intracellulaire et causer la lyse des cellules des aiguilles. Nos résultats peuvent possiblement être causés par une très forte diminution du contenu en eau lors du printemps, alors que la lyse maximale ré-augmente. Les conditions printanières peuvent réduire l'état hydrique des conifères, tels l'épinette noire, en raison d'un déficit de pression de vapeur cumulé élevé et d'une durée d'ensoleillement plus longue, à un moment où l'absorption d'eau est plus faible (Berg et Chapin III 1994).

Selon les prédictions de notre modèle, une augmentation de l'osmolalité va augmenter la lyse maximale et donc diminuer la résistance au froid. Ces résultats, également contre-intuitifs, sont contraires à notre hypothèse mais aussi à certaines observations précédentes (Cavender-Bares 2005; Pramsöhler et Neuner 2013). Pour mieux comprendre les dynamiques d'osmolalité en hiver, il serait intéressant de quantifier des enzymes comme la proline, la glycine, les protéines mais également les fructanes, oligosaccharides présentant des propriétés de protection des membranes proche des RFOs (Van den Ende 2013; Wisniewski *et al.* 2018; Wang *et al.* 2024).

## CONCLUSION

La présente étude visait à comprendre les effets de hausses de température et de stress hydrique estivaux sur la résistance au froid, la concentration en sucres, l'osmolalité et le contenu en eau chez l'épinette noire et le sapin baumier. Malgré des effets significatifs contrastés de ces traitements sur les variables physiologiques, ils ne permettent pas de confirmer l'hypothèse selon laquelle le réchauffement et le stress hydrique favoriseraient une augmentation généralisée de résistance au froid, en lien avec une diminution de la lyse maximale, une réduction du contenu en eau et une augmentation de la concentration en sucres. Un stress hydrique estival (diminution des précipitations de 65%) est ainsi associé à une concentration en saccharose significativement plus faible, tandis que la lyse maximale, significativement plus faible, a été observée qu'à travers l'interaction entre ce traitement de diminution de la précipitation et la date. Un réchauffement estival de 2°C est lui associé à une concentration en fructose significativement plus élevée mais également à un contenu en eau et une concentration en saccharose significativement plus faible. L'interaction de ce traitement de réchauffement avec la date est également associée à une augmentation significative de la lyse maximale.

Pour les espèces étudiées, la résistance au froid exprimée par la lyse maximale est significativement influencée par la température moyenne, le couvert de neige, l'osmolalité, le contenu en eau ainsi que la concentration en fructose et en raffinose. L'hypothèse selon laquelle l'osmolalité et la concentration en sucres augmenteraient la résistance au froid est partiellement démontrée. En effet, l'augmentation de la concentration en fructose et en raffinose a augmenté la résistance au froid des aiguilles des deux espèces. Cependant, contrairement à notre hypothèse, une augmentation de l'osmolalité a diminué la résistance au froid.

Cette étude a ainsi permis de mettre en évidence une forte capacité de résistance au froid des aiguilles d'épinette noire et du sapin baumier, caractérisés par des valeurs de  $LT_{50}$  bien inférieures aux températures de l'air mesurées, lorsqu'elles ont pu être estimées. Cette tolérance s'est également caractérisée par une lyse maximale très faible lors des mois d'hiver les plus froids.

En revanche, les périodes de transition saisonnière, telles que l'automne et le printemps sont particulièrement à risque. L'augmentation des températures durant ces périodes pourrait retarder l'acclimatation à l'automne ou avancer la désacclimatation au printemps, augmentant ainsi la vulnérabilité des tissus aux gels hors saison et pouvant induire des dommages. Ce mécanisme a déjà été observé chez l'épinette noire où des dommages ont été observés après un printemps exceptionnellement chaud suivi d'un gel tardif (Mura *et al.* 2022).

De futures études pourraient approfondir les mécanismes de résistance au froid en se concentrant sur les effets des hausses de température et de stress hydrique hivernales pendant les périodes critiques d'acclimatation et de désacclimatation. Ces recherches devraient s'intéresser non seulement aux aiguilles, mais aussi aux autres organes aériens ainsi qu'au système racinaire. En effet, un manque de couvert neigeux pourrait provoquer un gel du sol plus prolongé et plus profond, entraînant des conséquences potentielles sur la survie et le fonctionnement de ce système racinaire chez ces espèces. Il serait également pertinent de poursuivre les recherches sur les dynamiques d'osmolalité durant l'hiver en mesurant davantage de composés osmotiquement actifs autres que les principaux glucides non-structuraux, comme les acides aminés et les ions, afin d'améliorer la compréhension de cette variable.

## LISTE DE RÉFÉRENCES

- Abdelmoaty HM, Rajulapati CR, Nerantzaki SD et Papalexiou SM. 2025. Bias-corrected high-resolution temperature and precipitation projections for Canada. *Scientific Data*, 12 : 191.
- Allen CD, Macalady AK, Chenchouni H, Bachelet D, McDowell N, Vennetier M, Kitzberger T, Rigling A, Breshears DD, Hogg ET, Gonzalez P, Fensham R, Zhang Z, Castro J, Demidova N, Lim J-H, Allard G, W Running S, Semerci A et Cobb N. 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management*, 259 : 660-684.
- Améglio T, Decourteix M, Alves G, Valentin V, Sakr S, Julien J-L, Petel G, Guillot A et Lacoïnte A. 2004. Temperature effects on xylem sap osmolarity in walnut trees: evidence for a vitalistic model of winter embolism repair. *Tree physiology*, 24 : 785-793.
- Ammer C. 2019. Diversity and forest productivity in a changing climate. *New Phytologist*, 221 : 50-66.
- Anfodillo T, Di Bisceglie DP et Urso T. 2002. Minimum cuticular conductance and cuticle features of *Picea abies* and *Pinus cembra* needles along an altitudinal gradient in the Dolomites (NE Italian Alps). *Tree physiology*, 22 : 479-487.
- Aronsson A, Ingestad T et Löf LG. 1976. Carbohydrate metabolism and frost hardiness in pine and spruce seedlings grown at different photoperiods and thermoperiods. *Physiologia Plantarum*, 36 : 127-132.
- Arora R. 2019. A mechanistic understanding of winter hardiness in rhododendron: implications in breeding for cold hardiness. *Rhododendrons International* : 8.
- Arora R. 2025. Survival under prolonged cold: duration of stress, an overlooked factor in freezing tolerance tests. *Physiologia Plantarum*, 177 : e70633.
- Bansal S et Germino MJ. 2009. Temporal variation of non-structural carbohydrates in montane conifers: similarities and differences among developmental stages, species and environmental conditions. *Tree physiology*, 29 : 559-568.
- Beauvieux R, Wenden B et Dirlwanger E. 2018. Bud dormancy in perennial fruit tree species: a pivotal role for oxidative cues. *Frontiers in plant science*, 9 : 657.
- Berg EE et Chapin III FS. 1994. Needle loss as a mechanism of winter drought avoidance in boreal conifers. *Canadian Journal of Forest Research*, 24 : 1144-1148.
- Bernier PY. 1993. Comparing natural and planted black spruce seedlings. I. Water relations and growth. *Canadian Journal of Forest Research*, 23 : 2427-2434.

- Bertrand A, Rocher S, Claessens A, Bipfubusa M, Papadopoulos Y et Castonguay Y. 2020. Biochemical and molecular responses during overwintering of red clover populations recurrently selected for improved freezing tolerance. *Plant Science*, 292 : 110388.
- Bigras FJ et D'aoust AL. 1992. Hardening and dehardening of shoots and roots of containerized black spruce and white spruce seedlings under short and long days. *Canadian Journal of Forest Research*, 22 : 388-396.
- Bigras FJ et D'Aoust AL. 1993. Influence of photoperiod on shoot and root frost tolerance and bud phenology of white spruce seedlings (*Picea glauca*). *Canadian Journal of Forest Research*, 23 : 219-228.
- Bogdanović J, Mojović M, Milosavić N, Mitrović A, Vučinić Ž et Spasojević I. 2008. Role of fructose in the adaptation of plants to cold-induced oxidative stress. *European Biophysics Journal*, 37 : 1241-1246.
- Bonhomme M, Lacoite A et Rageau R. 2013. Evidence for non-occurrence of node-to-node or stem-to-bud transfer of chilling temperature signal for dormancy release. *Advances in horticultural science*, 27 : 33-43.
- Bourque A et Simonet G. 2008. Chapitre 5 Québec. Dans : *Vivre avec les changements climatiques au Canada*. Gouvernement du Canada, Ottawa (Ontario), p. 171-226.
- Bréda N, Huc R, Granier A et Dreyer E. 2006. Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science*, 63 : 625-644.
- Brendel O et Cochard H. 2011. How plant species cope with water stress. Dans : *Water for forests and people in Mediterranean region : A challenging balance*. European Forest Institute, p. 84-89.
- Buchner O et Neuner G. 2011. Winter frost resistance of *Pinus cembra* measured in situ at the alpine timberline as affected by temperature conditions. *Tree physiology*, 31 : 1217-1227.
- Buxton G, Cyr D, Dumbroff E et Webb D. 1985. Physiological responses of three northern conifers to rapid and slow induction of moisture stress. *Canadian Journal of Botany*, 63 : 1171-1176.
- Cailleret M et Davi H. 2011. Effects of climate on diameter growth of co-occurring *Fagus sylvatica* and *Abies alba* along an altitudinal gradient. *Trees*, 25 : 265-276.
- Calmé S, Margolis HA et Bigras FJ. 1993. Influence of cultural practices on the relationship between frost tolerance and water content of containerized black spruce, white spruce, and jack pine seedlings. *Canadian Journal of Forest Research*, 23 : 503-511.
- Cavender-Bares J. 2005. Impacts of freezing on long distance transport in woody plants. Dans : *Vascular transport in plants*. Academic Press, p. 401-424.

Chamberlain CJ, Cook BI, García de Cortázar-Atauri I et Wolkovich EM. 2019. Rethinking false spring risk. *Global Change Biology*, 25 : 2209-2220.

Charrier G. 2011. Mécanismes et modélisation de l'acclimatation au gel des arbres: application au noyer *Juglans regia* L. Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, 220 p.

Charrier G et Améglio T. 2011. The timing of leaf fall affects cold acclimation by interactions with air temperature through water and carbohydrate contents. *Environmental and Experimental Botany*, 72 : 351-357.

Charrier G, Lacoïnte A et Améglio T. 2018a. Dynamic modeling of carbon metabolism during the dormant period accurately predicts the changes in frost hardiness in walnut trees *Juglans regia* L. *Frontiers in plant science*, 9 : 1746.

Charrier G, Bonhomme M, Lacoïnte A et Améglio T. 2011. Are budburst dates, dormancy and cold acclimation in walnut trees (*Juglans regia* L.) under mainly genotypic or environmental control? *International journal of biometeorology*, 55 : 763-774.

Charrier G, Ngao J, Saudreau M et Améglio T. 2015. Effects of environmental factors and management practices on microclimate, winter physiology, and frost resistance in trees. *Frontiers in plant science*, 6 : 259.

Charrier G, Chuine I, Bonhomme M et Améglio T. 2018b. Assessing frost damages using dynamic models in walnut trees: exposure rather than vulnerability controls frost risks. *Plant, Cell & Environment*, 41 : 1008-1021.

Charrier G, Poirier M, Bonhomme M, Lacoïnte A et Améglio T. 2013. Frost hardiness in walnut trees (*Juglans regia* L.): how to link physiology and modelling? *Tree physiology*, 33 : 1229-1241.

Chen H et Jiang J-G. 2010. Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. *Environmental Reviews*, 18 : 309-319.

Chen HY et Luo Y. 2015. Net aboveground biomass declines of four major forest types with forest ageing and climate change in western Canada's boreal forests. *Global Change Biology*, 21 : 3675-3684.

Chuine I, Bonhomme M, Legave JM, García de Cortázar-Atauri I, Charrier G, Lacoïnte A et Améglio T. 2016. Can phenological models predict tree phenology accurately in the future? The unrevealed hurdle of endodormancy break. *Global Change Biology*, 22 : 3444-3460.

Cochard H, Pimont F, Ruffault J et Martin-StPaul N. 2021. SurEau: a mechanistic model of plant water relations under extreme drought. *Annals of Forest Science*, 78 : 1-23.

Dai A, Zhao T et Chen J. 2018. Climate change and drought: a precipitation and evaporation perspective. *Current Climate Change Reports*, 4 : 301-312.

- Dai A, Rasmussen RM, Liu C, Ikeda K et Prein AF. 2020. A new mechanism for warm-season precipitation response to global warming based on convection-permitting simulations. *Climate Dynamics*, 55 : 343-368.
- Deslauriers A, Beaulieu M, Balducci L, Giovannelli A, Gagnon MJ et Rossi S. 2014. Impact of warming and drought on carbon balance related to wood formation in black spruce. *Annals of botany*, 114 : 335-345.
- Deslauriers A, Garcia L, Charrier G, Buttò V, Pichette A et Paré M. 2021. Cold acclimation and deacclimation in wild blueberry: direct and indirect influence of environmental factors and non-structural carbohydrates. *Agricultural and Forest Meteorology*, 301 : 108349.
- Deslauriers A, Benoit P, Balducci L, Néron V, Guzmán-Marín R, Rossi S, Lavoie S et Isabel N. 2025. The effects of metabolic and functional traits on bud opening: Comparing warming and defoliation in conifers. *Plant Physiology*, 199 : kiaf435.
- Dexter ST, Tottingham W et Graber L. 1932. Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiology*, 7 : 63.
- Duman JG et Wisniewski MJ. 2014. The use of antifreeze proteins for frost protection in sensitive crop plants. *Environmental and Experimental Botany*, 106 : 60-69.
- Elle D et Sauter JJ. 2000. Seasonal changes of activity of a starch granule bound endoamylase and of a starch phosphorylase in poplar wood (*Populus× canadensis* Moench× *robusta*) and their possible regulation by temperature and phytohormones. *Journal of Plant Physiology*, 156 : 731-740.
- Environnement et Changement climatique Canada. 2025. Données historiques quotidiennes climatiques de l'aéroport international Jean Lesage, Québec. Gouvernement du Canada.
- Ericsson A. 1979. Effects of fertilization and irrigation on the seasonal changes of carbohydrate reserves in different age-classes of needle on 20-year-old Scots pine trees (*Pinus silvestris*). *Physiologia Plantarum*, 45 : 270-280.
- Erstad BL. 2003. Osmolality and osmolarity: narrowing the terminology gap. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 23 : 1085-1086.
- Fischer C et Höll W. 1992. Food reserves of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) II. Seasonal changes and radial distribution of carbohydrate and fat reserves in pine wood. *Trees*, 6 : 147-155.
- Fletcher AL, Sinclair TR et Allen Jr LH. 2007. Transpiration responses to vapor pressure deficit in well watered 'slow-wilting' and commercial soybean. *Environmental and Experimental Botany*, 61 : 145-151.
- Frank RM. 1990. *Abies balsamea* (L.) Mill. balsam fir. *Silvics of North America*, 1 : 26-35.
- Girardin MP, Bouriaud O, Hogg EH, Kurz W, Zimmermann NE, Metsaranta JM, de Jong R, Frank DC, Esper J, Büntgen U, Guo XJ et Bhatti J. 2016. No growth stimulation of Canada's boreal forest

under half-century of combined warming and CO<sub>2</sub> fertilization. Proceedings of the National Academy of Sciences, 113 : E8406-E8414.

Grossiord C, Buckley TN, Cernusak LA, Novick KA, Poulter B, Siegwolf RT, Sperry JS et McDowell NG. 2020. Plant responses to rising vapor pressure deficit. New Phytologist, 226 : 1550-1566.

Grossnickle SC et Blake TJ. 1987. Water relation patterns of bare-root and container jack pine and black spruce seedlings planted on boreal cut-over sites. New Forests, 1 : 101-116.

Guy CL. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 41 : 187-223.

Harms U et Sauter JJ. 1992. Changes in content of starch, protein, fat and sugars in the branchwood of *Betula pendula* Roth during fall. Holzforschung, 46 : 455-461.

Hernández-Sánchez IE, Maruri-López I, Martínez-Martínez C, Janis B, Jiménez-Bremont JF, Covarrubias AA, Menze MA, Graether SP et Thalhammer A. 2022. LEAing through literature: late embryogenesis abundant proteins coming of age—achievements and perspectives. Journal of Experimental Botany, 73 : 6525-6546.

Hinesley L, Pharr D, Snelling L et Funderburk S. 1992. Foliar raffinose and sucrose in four conifer species: relationship to seasonal temperature. Journal of the American Society for Horticultural Science, 117 : 852-855.

Höll W. 1985. Seasonal fluctuation of reserve materials in the trunkwood of spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. Journal of Plant Physiology, 117 : 355-362.

Hopkins WG. 2003. Physiologie végétale. De Boeck Supérieur, Bruxelles.

IPCC. 2023. Climate change 2023: synthesis reports. IPCC, IPCC, Geneva, Switzerland, 35-115 p.

Ishikawa M, Ishikawa M, Toyomasu T, Aoki T et Price WS. 2015. Ice nucleation activity in various tissues of *Rhododendron* flower buds: their relevance to extraorgan freezing. Frontiers in plant science, 6 : 149.

Jarrell WM, Armstrong DE, Grigal D, Kelly E, Monger HC et Wedin D. 1999. Soil water and temperature status. Oxford University Press New York.

Katz C, Oren R, Schulze E-D et Milburn J. 1989. Uptake of water and solutes through twigs of *Picea abies* (L.) Karst. Trees, 3 : 33-37.

Kleinendorst A et Brouwer R. 1972. The effect of local cooling on growth and water content of plants. Netherlands Journal of Agricultural Science, 20 : 203-217.

Körner C et Riedl S. 2012. Alpine treelines : functional ecology of the global high elevation tree limits. Springer International Publishing, Basel.

Kovaleski AP. 2022. Woody species do not differ in dormancy progression: differences in time to budbreak due to forcing and cold hardiness. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119 : e2112250119.

Kovaleski AP, Reisch BI et Londo JP. 2018. Deacclimation kinetics as a quantitative phenotype for delineating the dormancy transition and thermal efficiency for budbreak in *Vitis* species. *AoB Plants*, 10 : ply066.

Kuhn M. 2012. Rain and snow at high elevation. Dans : *Plants in Alpine Regions*. Springer, Vienna, p. 1-10.

Lamhamedi M et Bernier P. 1994. Ecophysiology and field performance of black spruce (*Picea mariana*): a review. *Annals of Forest Science*, 51 : 529-551.

Lang GA, Early JD, Martin GC et Darnell RL. 1987. Endo-, para-, and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. *HortScience*, 22 : 371-377.

Lee JH, Yu DJ, Kim SJ, Choi D et Lee HJ. 2012. Intraspecies differences in cold hardiness, carbohydrate content and  $\beta$ -amylase gene expression of *Vaccinium corymbosum* during cold acclimation and deacclimation. *Tree physiology*, 32 : 1533-1540.

Lenz A, Hoch G, Körner C et Vitasse Y. 2016. Convergence of leaf-out towards minimum risk of freezing damage in temperate trees. *Functional Ecology*, 30 : 1480-1490.

Li Y, Tian Q, Wang Z, Li J, Liu S, Chang R, Chen H et Liu G. 2023. Integrated analysis of transcriptomics and metabolomics of peach under cold stress. *Frontiers in plant science*, 14 : 1153902.

Lineberger RD et Steponkus PL. 1980. Cryoprotection by glucose, sucrose, and raffinose to chloroplast thylakoids. *Plant Physiology*, 65 : 298-304.

Lintunen A, Paljakka T, Jyske T, Peltoniemi M, Sterck F, Von Arx G, Cochard H, Copini P, Caldeira MC et Delzon S. 2016. Osmolality and non-structural carbohydrate composition in the secondary phloem of trees across a latitudinal gradient in Europe. *Frontiers in plant science*, 7 : 726.

Little C. 1970. Seasonal changes in carbohydrate and moisture content in needles of balsam fir (*Abies balsamea*). *Canadian Journal of Botany*, 48 : 2021-2028.

Losso A, Bär A, Unterholzner L, Bahn M et Mayr S. 2021. Branch water uptake and redistribution in two conifers at the alpine treeline. *Scientific Reports*, 11 : 12.

Lunn JE. 2016. Sucrose metabolism. *Encyclopedia of Life Science* : 9.

Marchand PJ et Chabot BF. 1978. Winter water relations of tree-line plant species on Mt. Washington, New Hampshire. *Arctic and Alpine Research*, 10 : 105-116.

Mayr S, Schmid P et Rosner S. 2019. Winter embolism and recovery in the conifer shrub *Pinus mugo* L. *Forests*, 10 : 941.

Mayr S, Schmid P, Laur J, Rosner S, Charra-Vaskou K, Dämon B et Hacke UG. 2014. Uptake of water via branches helps timberline conifers refill embolized xylem in late winter. *Plant Physiology*, 164 : 1731-1740.

Mohanty S et Hembram P. 2024. An overview of LEA genes and their importance in combating abiotic stress in rice. *Plant Molecular Biology Reporter* : 1-15.

Mura C, Charrier G, Kovaleski AP, Raymond P, Deslauriers A et Rossi S. 2025a. Is it cold enough? Effects of artificial and natural chilling on budbreak and frost hardiness in *Acer Saccharum* (Marsh.). *Physiologia Plantarum*, 177.

Mura C, Buttò V, Silvestro R, Deslauriers A, Charrier G, Raymond P et Rossi S. 2022. The early bud gets the cold: Diverging spring phenology drives exposure to late frost in a *Picea mariana* [(Mill.) BSP] common garden. *Physiologia Plantarum*, 174 : e13798.

Mura C, Charrier G, Buttò V, Delagrangé S, Surget-Groba Y, Raymond P, Rossi S et Deslauriers A. 2025b. Local conditions have greater influence than provenance on sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.) frost hardiness at its northern range limit. *Tree physiology*, 45 : tpa167.

Neuner G. 2014. Frost resistance in alpine woody plants. *Frontiers in plant science*, 5 : 654.

Nilsen ET et Orcutt DM. 1996. *Physiology of plants under stress. Abiotic factors*. John Wiley and Sons.

Nishizawa A, Yabuta Y et Shigeoka S. 2008. Galactinol and raffinose constitute a novel function to protect plants from oxidative damage. *Plant Physiology*, 147 : 1251-1263.

North M, Workmaster BA et Atucha A. 2022. Effects of chill unit accumulation and temperature on woody plant deacclimation kinetics. *Physiologia Plantarum*, 174 : e13717.

North MG et Kovaleski AP. 2024. Time to budbreak is not enough: cold hardiness evaluation is necessary in dormancy and spring phenology studies. *Annals of botany*, 133 : 217-224.

Nourtier M. 2011. La vulnérabilité du sapin pectiné (*Abies alba* Mill.) à la sécheresse en milieu méditerranéen selon les propriétés hydriques du sol. Thèse de doctorat, Université d'Avignon.

Palacio S, Lenz A, Wipf S, Hoch G et Rixen C. 2015. Bud freezing resistance in alpine shrubs across snow depth gradients. *Environmental and Experimental Botany*, 118 : 95-101.

Palta JP et Li PH. 1980. Alterations in membrane transport properties by freezing injury in herbaceous plants: Evidence against rupture theory. *Physiologia Plantarum*, 50 : 169-175.

- Peshev D, Vergauwen R, Moglia A, Hideg É et Van den Ende W. 2013. Towards understanding vacuolar antioxidant mechanisms: a role for fructans? *Journal of Experimental Botany*, 64 : 1025-1038.
- Peterbauer T, Mucha J, Mach L et Richter A. 2002a. Chain Elongation of Raffinose in Pea Seeds: isolation, characterization, and molecular cloning of a multifunctional enzyme catalyzing the synthesis of stachyose and verbascose. *Journal of Biological Chemistry*, 277 : 194-200.
- Peterbauer T, Mach L, Mucha J et Richter A. 2002b. Functional expression of a cDNA encoding pea (*Pisum sativum* L.) raffinose synthase, partial purification of the enzyme from maturing seeds, and steady-state kinetic analysis of raffinose synthesis. *Planta*, 215 : 839-846.
- Picard G, Quegan S, Delbart N, Lomas MR, Le Toan T et Woodward FI. 2005. Bud-burst modelling in Siberia and its impact on quantifying the carbon budget. *Global Change Biology*, 11 : 2164-2176.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, Heisterkamp S, Van Willigen B et Maintainer R. 2017. Package 'nlme'. Linear and nonlinear mixed effects models, version, 3 : 274.
- Pramsohler M et Neuner G. 2013. Dehydration and osmotic adjustment in apple stem tissue during winter as it relates to the frost resistance of buds. *Tree physiology*, 33 : 807-816.
- Ravn J, D'Orangeville L, Lavigne MB et Taylor AR. 2022. Phenotypic plasticity enables considerable acclimation to heat and drought in a cold-adapted boreal forest tree species. *Frontiers in Forests and Global Change*, 5.
- Ravn J, Taylor AR, Lavigne MB et D'Orangeville L. 2023. Local adaptation of balsam fir seedlings improves growth resilience to heat stress. *Canadian Journal of Forest Research*, 54 : 331-343.
- Repo T et Lappi J. 1989. Estimation of standard error of impedance-estimated frost resistance. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 4 : 67-74.
- Rigby J et Porporato A. 2008. Spring frost risk in a changing climate. *Geophysical Research Letters*, 35.
- Rohde A et Bhalerao RP. 2007. Plant dormancy in the perennial context. *Trends in plant science*, 12 : 217-223.
- Rossi S, Simard S, Rathgeber CB, Deslauriers A et De Zan C. 2009. Effects of a 20-day-long dry period on cambial and apical meristem growth in *Abies balsamea* seedlings. *Trees*, 23 : 85-93.
- Running SW. 1976. Environmental control of leaf water conductance in conifers. *Canadian Journal of Forest Research*, 6 : 104-112.
- Rutter A. 1957. Studies in the Growth of Young of *Pinus sylvestris* L. I. The Annual Cycle of Assimilation and Growth. *Annals of botany*, 21 : 399-426.

- Sakai A. 1966. Studies of frost hardiness in woody plants. II. Effect of temperature on hardening. *Plant Physiology*, 41 : 353-359.
- Sakai A et Weiser C. 1973. Freezing resistance of trees in North America with reference to tree regions. *Ecology*, 54 : 118-126.
- Sakai A et Larcher W. 1987. *Ecological Studies. Frost survival of plants. Responses and adaptation to freezing stress.* Springer-Verlag, Berlin, 321 p.
- Sarris D, Christodoulakis D et Körner C. 2007. Recent decline in precipitation and tree growth in the eastern Mediterranean. *Global Change Biology*, 13 : 1187-1200.
- Saxe H, Cannell MG, Johnsen Ø, Ryan MG et Vourlitis G. 2001. Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytologist*, 149 : 369-399.
- Schaberg P, Snyder M, Shane J et Donnelly J. 2000. Seasonal patterns of carbohydrate reserves in red spruce seedlings. *Tree physiology*, 20 : 549-555.
- Senser M, Schötz F et Beck E. 1975. Seasonal changes in structure and function of spruce chloroplasts. *Planta*, 126 : 1-10.
- Shen J, Liu J, Yuan Y, Chen L, Ma J, Li X et Li J. 2022. The mechanism of abscisic acid regulation of wild *Fragaria* species in response to cold stress. *BMC genomics*, 23 : 670.
- Simard S, Giovannelli A, Treydte K, Traversi ML, King GM, Frank D et Fonti P. 2013. Intra-annual dynamics of non-structural carbohydrates in the cambium of mature conifer trees reflects radial growth demands. *Tree physiology*, 33 : 913-923.
- Sleptsov I, Mikhailov V, Rozhina S et Kershengolts B. 2023. The year-round dynamic of metabolites accumulation in *Pinus sylvestris* needles in permafrost zone. *Trees*, 37 : 285-296.
- Sperry J. 1993. Winter xylem embolism and spring recovery in *Betula cordifolia*, *Fagus grandifolia*, *Abies balsamea* and *Picea rubens*. Dans : *Water transport in plants under climatic stress.* Cambridge University Press, Cambridge, p. 86-98.
- Strimbeck GR, Schaberg PG, Fossdal CG, Schröder WP et Kjellsen TD. 2015. Extreme low temperature tolerance in woody plants. *Frontiers in plant science*, 6 : 884.
- Sun Y, Solomon S, Dai A et Portmann RW. 2007. How often will it rain? *Journal of Climate*, 20 : 4801-4818.
- Taïbi K, Del Campo AD, Vilagrosa A, Bellés JM, López-Gresa MP, López-Nicolás JM et Mulet JM. 2018. Distinctive physiological and molecular responses to cold stress among cold-tolerant and cold-sensitive *Pinus halepensis* seed sources. *BMC plant biology*, 18 : 236.

- Taiz L, Zeiger E, Møller IM et Murphy A. 2015. Plant physiology and development. Sinauer Associates Incorporated.
- Tranquillini W. 1957. Standortsklima, Wasserbilanz und CO<sub>2</sub>-Gaswechsel junger Zirben (*Pinus cembra* L.) an der alpinen Waldgrenze. *Planta*, 49 : 612-661.
- Tranquillini W. 2012. Physiological ecology of the alpine timberline: tree existence at high altitudes with special reference to the European Alps. Springer Science & Business Media.
- Tranquillini W et Platter W. 1983. Der winterliche Wasserhaushalt der Lärche (*Larix decidua* Mill.) an der alpinen Waldgrenze. *Verh Ges Ökol*, 9 : 433-443.
- Traversari S, De Carlo A, Traversi ML, Minnocci A, Francini A, Sebastiani L et Giovannelli A. 2020. Osmotic adjustments support growth of poplar cultured cells under high concentrations of carbohydrates. *Plant cell reports*, 39 : 971-982.
- Trenberth KE, Dai A, Rasmussen RM et Parsons DB. 2003. The changing character of precipitation. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 84 : 1205-1218.
- Turner J, Anderson P, Lachlan-Cope T, Colwell S, Phillips T, Kirchgaessner A, Marshall GJ, King JC, Bracegirdle T et Vaughan DG. 2009. Record low surface air temperature at Vostok station, Antarctica. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 114.
- Van den Ende W. 2013. Multifunctional fructans and raffinose family oligosaccharides. *Frontiers in plant science*, 4 : 247.
- Vincent L, Zhang X, Mekis É, Wan H et Bush E. 2018. Changes in Canada's climate: trends in indices based on daily temperature and precipitation data. *Atmosphere-Ocean*, 56 : 332-349.
- Vincent LA, Zhang X, Brown R, Feng Y, Mekis E, Milewska E, Wan H et Wang X. 2015. Observed trends in Canada's climate and influence of low-frequency variability modes. *Journal of Climate*, 28 : 4545-4560.
- Wang D, Kasuga J, Kuwabara C, Endoh K, Fukushi Y, Fujikawa S et Arakawa K. 2012. Presence of supercooling-facilitating (anti-ice nucleation) hydrolyzable tannins in deep supercooling xylem parenchyma cells in *Cercidiphyllum japonicum*. *Planta*, 235 : 747-759.
- Wang Y, Wang J, Sarwar R, Zhang W, Geng R, Zhu K-M et Tan X-L. 2024. Research progress on the physiological response and molecular mechanism of cold response in plants. *Frontiers in plant science*, 15 : 1334913.
- Weiser C. 1970. Cold resistance and injury in woody plants: knowledge of hardy plant adaptations to freezing stress may help us to reduce winter damage. *Science*, 169 : 1269-1278.
- Wisniewski M, Nassuth A et Arora R. 2018. Cold hardiness in trees: a mini-review. *Frontiers in plant science*, 9 : 1394.

Woodruff DR. 2014. The impacts of water stress on phloem transport in Douglas-fir trees. *Tree physiology*, 34 : 5-14.

Xiong L et Zhu JK. 2002. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant, Cell & Environment*, 25 : 131-139.

Yamada T, Kuroda K, Jitsuyama Y, Takezawa D, Arakawa K et Fujikawa S. 2002. Roles of the plasma membrane and the cell wall in the responses of plant cells to freezing. *Planta*, 215 : 770-778.

Zhang J, Nishimura N, Okubo A et Yamazaki S. 2002. Development of an analytical method for the determination of betaines in higher plants by capillary electrophoresis at low pH. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13 : 189-194.

Zhang M et Willison J. 1986. Ultrastructure of the cell wall of bromegrass (*Bromus inermis* Leyss) cell suspension culture. *Plant cell reports*, 5 : 448-451.

Zhu X-y, Jing Y, Chen G-c, Wang S-m et Zhang C-l. 2003. Solute levels and osmoregulatory enzyme activities in reed plants adapted to drought and saline habitats. *Plant growth regulation*, 41 : 165-172.

Zine El Abidine A. 1994. Les relations hydriques et les échanges gazeux de quatre populations d'épinette noire, *Picea mariana* (Mill.) BSP, en relation avec leur tolérance au stress hydrique. National Library of Canada Ottawa.

Zwiazek JJ, Renault S, Croser C, Hansen J et Beck E. 2001. Biochemical and biophysical changes in relation to cold hardiness. Dans : *Conifer cold hardiness*. Springer, p. 165-186.