

Etude comparative de la réponse physiologique de deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) à l'infection par *Blumeria graminis* f.sp.tritici agent causal de l'oïdium

Saliha Attab & Louhichi Brinis.

Laboratoire Amélioration Génétique des Plantes, Département de Biologie,
Université Badji Mokhtar Annaba, BP 12, 23000, Algérie.

Révisé le 23/12/2011

Accepté le 16/04/2012

ملخص

أجريت أبحاث في بيت بلاستيكي شبه مكيف بهدف إبراز وضعية مختلف الميكانيزمات المرتبطة بمقاومة صنفين من القمح الصلب (*Triticum durum* Desf.) للبياض الدقيقي (*Blumeria graminis* f.sp.tritici). في طور سنة أوراق تم تلقيح نباتات القمح بلفاح جمع من حقل للقمح الصلب. تم التطرق للتفاعل بين القمح و *Blumeria graminis* من ناحية بيوكيميائية عبر تقدير السكريات الذائبة و فيزيولوجية بدراسة الميزان المائي للورقة (إنتاج الخلايا و النتج الأدمي). تظهر النتائج المتحصل عليها أن الإصابة بـ *Blumeria graminis* أدت إلى تراكم معنوي للسكريات الذائبة عند الأوراق المصابة للسنف Waha بالمقارنة مع الشواهد غير الملقحة. بالنسبة للسنف Vitron سجل انخفاض غير معنوي للسكريات الذائبة عند الأوراق المصابة مقارنة بالشواهد. فيما يخص الميزان المائي يظهر أن استجابة الصنفين للإصابة كانت متشابهة عن طريق الإبقاء على إنتاج خلوي عالي عند الأوراق المصابة خاصة بالنسبة للسنف Vitron أين كان الفرق معنويا. بالنسبة للفقد المتدرج للماء أو النتج الأدمي (R.W.L.) سجل انخفاض جد معنوي عند الأوراق المصابة للسنف Waha مقارنة بالشواهد. هذه النتائج تجعلنا نعتقد أن المحتوى النسبي للماء و تراكم السكريات الذائبة يمكن اعتبارهما كمعايير لانتخاب أصناف مقاومة للأمراض.

الكلمات المفتاحية : *Blumeria graminis* - قمح صلب - سكريات ذائبة - ميزان مائي.

Résumé

Des travaux, en serre semi- contrôlée, ont été réalisés dans le but de présenter un état des différents mécanismes liés à la résistance de deux génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) à l'oïdium (*Blumeria graminis* f.sp. tritici). Des plants de blé ont été inoculés au stade six feuilles avec un inoculum provenant d'un champ de blé dur. L'interaction blé / *Blumeria graminis* a été abordée sous une approche biochimique par le biais du dosage des sucres solubles et physiologique en étudiant le statut hydrique de la feuille (turgescence cellulaire et transpiration cuticulaire). Les résultats obtenus montrent que l'infection par *Blumeria graminis* entraîne une accumulation significative des sucres solubles chez les feuilles infectées de la variété Waha comparativement aux témoins non inoculés. Pour la variété Vitron, une baisse non significative des sucres solubles est enregistrée chez les feuilles infectées par rapport aux témoins. En ce qui concerne le statut hydrique, les deux génotypes semblent réagir à l'infection d'une façon similaire par le maintien d'une turgescence cellulaire (R.W.C) élevée des feuilles infectées surtout pour la variété Vitron où la différence est significative. Pour la perte graduelle en eau ou transpiration cuticulaire (R.W.L), une chute très hautement significative est notée chez les feuilles infectées de Waha par rapport aux témoins. Ces résultats nous laissent penser que la teneur relative en eau et l'accumulation des sucres solubles peuvent être pris en considération comme critères de sélection de génotypes résistants à la maladie.

Mots-clés : *Blumeria graminis* - Blé dur- Sucres solubles - Statut hydrique.

Abstract

An experiment was run in green house under semi controlled conditions, to present an overview of the different mechanisms involved in resistance of two durum wheat genotypes (*Triticum durum* Desf.) to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. tritici). Wheat plants were inoculated at six leaves stage. The wheat/ *Blumeria graminis* interaction has been approached by biochemical analysis through the determination of soluble sugars and studying physiological water status of the leaf (RWC and RWL). The results show that infection by *Blumeria graminis* f.sp. tritici causes a significant accumulation of soluble sugars in leaves of the cultivar Waha compared to non inoculated controls. Cultivar Vitron showed a non-significant decrease of soluble sugars in infected leaves compared to controls. As to water status, the two genotypes seem to react to infection in a similar way in maintaining cell turgor (RWC) of leaves infected for Vitron especially where the difference is significant. For the gradual loss of water (RWL), a very high significant decrease was noted in infected leaves for Waha compared to controls. These results suggest that the relative water content and accumulation of soluble sugars may be considered as criteria for selection of genotypes resistant to diseases.

Key words : *Blumeria graminis*- Durum wheat- Soluble sugars- Water status.

1. INTRODUCTION

En Algérie, les céréales et particulièrement le blé, sont les cultures prédominantes et nécessitent une amélioration pour satisfaire une demande sans cesse croissante. L'obtention de cultivars à hauts rendements et stables dans le temps, ayant de bons niveaux de résistance aux maladies et insectes et une bonne qualité technologique est recherchée [1]. L'oïdium du blé est une maladie causée par le champignon ascomycète biotrophe (*Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f.sp. tritici syn. *Erysiphe graminis* f.sp. tritici) [2-4]. Ce champignon se développe sur les parties aériennes de la plante sous forme d'un feutrage blanc et cause des pertes importantes de rendement en conditions méditerranéennes [5] et dans le monde entier [6]. Ces pertes sont plus accentuées dans un climat relativement tempéré et humide [7]. L'infection par des agents pathogènes conduit à l'induction de la défense ainsi que des changements dans le métabolisme de la plante [8].

Sous des contraintes biotiques, l'accumulation active de solutés compatibles tels que les acides aminés, les polyamines et les hydrates de carbone semblent être un moyen efficace du mécanisme de tolérance au stress [9].

Des situations de stress abiotiques, telles que la sécheresse [10, 11], les fortes salinités [12, 13], les faibles températures, [14, 15], l'excès d'un élément chimique tel que le Cadmium [16], conduisent à une forte accumulation de sucres solubles, généralement interprétée comme une réponse adaptative [17].

Les sucres solubles sont également impliqués dans de nombreuses conditions de stress biotiques où ils peuvent jouer un rôle dans l'induction de la résistance à une infection par un agent pathogène comme dans le cas du riz infecté par *Magnaporthe oryzae* B.C. Couch [18] et du taro infecté par *Phytophthora colocasiae* [19]. Il est démontré de plus en plus que la disponibilité des glucides joue un rôle dans la résistance des plantes contre les micro-organismes pathogènes et que celles-ci ont développé des mécanismes permettant de moduler leurs flux d'hydrates de carbone en réponse aux infections. Les niveaux les plus importants d'accumulation des sucres solubles semblent être une preuve de la résistance de la plante contre les maladies alors que la réduction en hydrates de carbone peut augmenter sa sensibilité [20].

La compréhension des processus de régulation impliqués dans la distribution des photoassimilats et l'accumulation des hydrates de carbone, suite à l'infection par des agents pathogènes, paraît d'une grande importance économique. A l'avenir, cette information peut aider dans les programmes de sélection pour le développement de variétés qui peuvent résister à des conditions de stress biotiques tels que les maladies fongiques.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Matériel végétal

Les caractéristiques des cultivars de blé dur utilisés sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques des cultivars de blé dur utilisés [21, 22].

Cultivars	Caractéristiques
Waha	Sélection CIMMYT-ICARDA-Elkhroub. Paille courte et demi-pleine, précoce, résistante à l'oïdium et au piétin verse, mieux adaptée aux régions arides et semi-arides, bonne productivité.
Vitron	Originnaire d'Espagne, paille haute à moyenne, cycle végétatif demi-précoce, tallage moyen, mieux adaptée aux régions arides et semi-arides, assez sensible à la rouille brune et à la verse.

2.2 Conduite de l'essai

L'essai a été conduit dans six pots selon un dispositif en blocs complètement randomisés avec deux traitements (inoculé et non inoculé).

Pour chaque traitement, trois répétitions de dix graines de blé par pot ont été réalisées ; les pots ainsi garnis ont été déposés dans une serre semi-contrôlée, au niveau du département de biologie Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie.

2.3 L'inoculation

Au stade six feuilles, les plantules de blé étaient séparées dans deux serres. Les plantes de la première serre étaient considérées comme étant des témoins.

Les plantes de la seconde étaient inoculées avec une suspension contenant des spores de *Blumeria graminis* f.sp. tritici qui a été constituée à partir de feuilles de blé présentant des symptômes d'oïdium récoltées d'un champ de blé dur dans la région d'Annaba.

2.4 Méthodes expérimentales

Après une semaine de l'inoculation, les symptômes de la maladie sont apparus sur les feuilles des plantes inoculées. Trois feuilles ont été utilisées pour chaque traitement et pour chaque paramètre étudié.

2.4.1 Etude biochimique

Le dosage des sucres solubles est déterminé par la méthode à l'antrone [23].

2.4.2 Etude physiologique

2.4.2.1 Teneur relative en eau des feuilles (R.W.C)

La teneur relative en eau est déterminée selon la formule de Clarke et Mc caig [24]:

$$R. W. C. = \frac{PF - PS}{PT - PS} \times 100 \%$$

PF: poids frais, déterminé immédiatement après prélèvement des feuilles.

PT: poids à la turgescence obtenu après 24 heures de trempage des feuilles dans l'eau à l'obscurité.

PS: poids sec déterminé après séchage des feuilles à l'étuve à 80°C pendant 24 heures.

2.4.2.2 Perte graduelle en eau ou transpiration cuticulaire (R.W.L)

La méthode utilisée est celle de Clarke *et al.* [25], selon la formule suivante :

$$R. W. L. = \frac{(P1 - P2h)}{PS} \times \frac{1}{SF \times 120} g/cm^2 \cdot min$$

P1: poids frais déterminé immédiatement après prélèvement des feuilles.

P2h: poids frais obtenu après deux heures dans les conditions du laboratoire.

PS: poids sec obtenu après séchage des feuilles à l'étuve à 80°C pendant 24 heures.

SF: surface foliaire.

La surface foliaire est estimée par la méthode de Paul *et al.* [26]:

-Placer la feuille sur du papier calque.

-Découper les contours de la feuille.

-Peser la partie du calque représentant la feuille (Pf).

-Déterminer par pesée le poids (Pq) correspondant à une surface (Sq) connue d'un carré du même papier calque.

-Dédire la surface de la feuille SF par la formule suivante :

$$SF = \frac{Pf \times Sq}{Pq} cm^2$$

2.5 Etude statistique

L'analyse de la variance a été appliquée à toutes les variables. Lorsque celle ci montre un effet traitement significatif, un test de Student est calculé au seuil de 5%.

Le logiciel utilisé est le logiciel d'analyse et de traitement statistique des données Minitab.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Teneur relative des feuilles en eau (R.W.C)

Les résultats montrent que les deux génotypes de blé dur ont réagi d'une façon similaire (Fig.1), l'effet de l'inoculation par le champignon *Blumeria graminis* f.sp. tritici semble avoir été de nature à modifier la turgescence cellulaire; en effet, une augmentation est remarquée chez les feuilles infectées par rapport aux témoins.

Ces résultats sont confirmés par le test de Student qui est significatif pour la variété Vitron. Ce maintien de la turgescence est souvent considéré comme un bon indicateur de l'état hydrique de la plante et peut être le résultat d'une accommodation transitoire par une fermeture partielle des stomates.

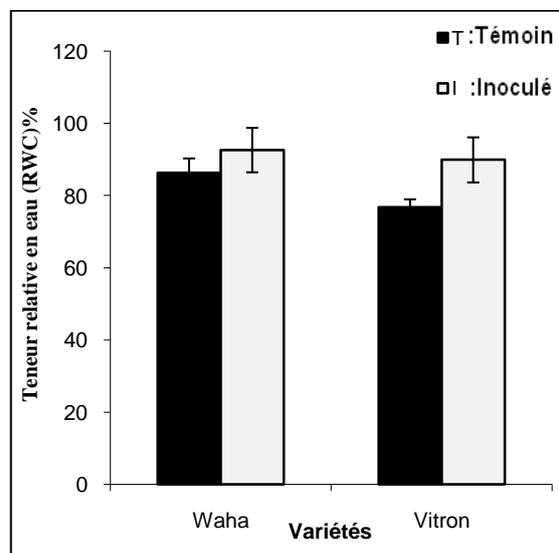


Figure1. Teneur relative en eau (RWC)%

3.2 Perte graduelle en eau (R.W.L)

Le test montre une différence très hautement significative pour la variété Waha. La perte graduelle en eau a fortement chuté ($24.09 \text{ g/cm}^2 \cdot \text{min}$) pour le témoin contre ($8.66 \text{ g/cm}^2 \cdot \text{min}$) pour l'inoculé. L'explication résiderait dans la fermeture des stomates suite à l'infection. Concernant la variété Vitron, une légère diminution non significative apparaît et pourrait aller en faveur d'une adaptation foliaire par une gestion plus efficace et plus rationnelle en eau (Fig. 2). Le statut hydrique confère ainsi à la variété Vitron une corrélation inverse entre le R.W.C et le R.W.L, en ce sens que lorsque le R.W.C augmente, le R.W.L diminue. Chez la Variété Waha, ce mécanisme physiologique dénote de la capacité d'accommodation du génotype, en présence du champignon.

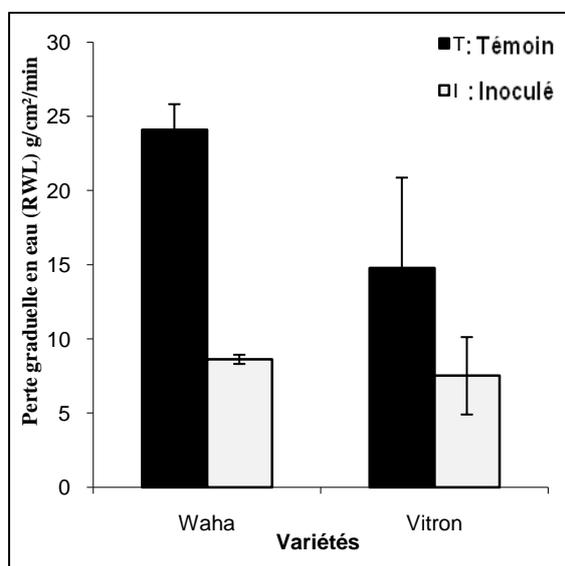


Figure 2. Perte graduelle en eau (RWL) $\text{g/cm}^2/\text{min}$

3.3 Sucres solubles

La variété Waha a réagi positivement en accumulant significativement les sucres solubles où l'on note une augmentation supérieure de plus de trois fois chez les feuilles infectées par rapport aux témoins (Fig. 3), impliquant ainsi, l'action effective du champignon dans l'expression d'un tel mécanisme biochimique. En effet, l'excès de sucre peut aboutir à l'induction des gènes impliqués dans la synthèse de composés utilisés pour la défense permettant aux plantes d'interagir avec les organismes pathogènes [27, 28]. Concernant la variété Vitron, la diminution de la teneur en sucres solubles même si elle n'est pas significative, dénote de l'inefficacité

de la variété à agir par la voie biochimique, pour démontrer sa capacité adaptative.

A ce titre, et au regard de ces trois tests, la variété Waha se présente comme un modèle biologique intéressant permettant d'exprimer à la fois des mécanismes physiologiques (statut hydrique en particulier) et biochimiques (accumulation de sucres solubles en tant qu'osmoprotecteurs), mécanismes qui lui confèrent un statut de génotype résistant à l'agression biotique par le champignon *Blumeria graminis* f.sp.tritici. Quant à la variété Vitron, elle peut être à juste titre considérée comme un génotype qui, même s'il bénéficie de certains mécanismes physiologiques, reste sensible à l'agression par l'oïdium.

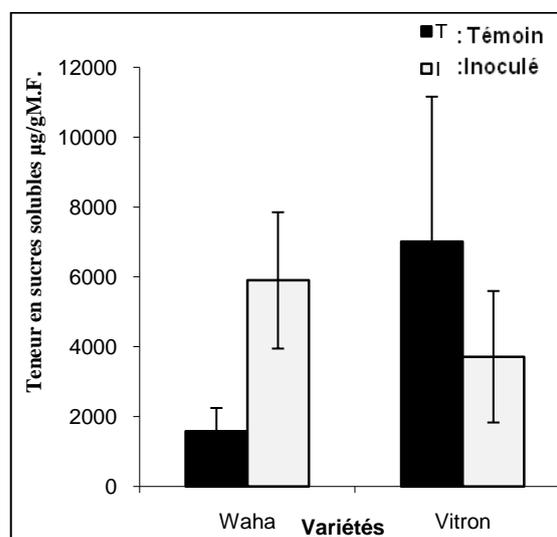


Figure 3. Teneur en sucres solubles $\mu\text{g/gM.F.}$

4. CONCLUSION

Il ressort de cette étude que les deux génotypes ont des réponses spécifiques à l'égard de la maladie. Le génotype Vitron étant sensible à l'oïdium, ne s'exprime qu'à travers une accommodation physiologique qui est le statut hydrique où il maintient une bonne turgescence cellulaire. Par contre, le génotype Waha manifeste un spectre d'adaptation plus large exprimé à la fois à travers un statut hydrique (turgescence cellulaire) et biochimique (accumulation des sucres solubles). Ainsi, la mise en évidence de la corrélation entre l'accumulation d'osmolytes tels que les sucres solubles endogènes et la modulation de la tolérance au stress biotique pourrait s'avérer intéressante pour retenir des critères de sélection de plantes tolérantes aux maladies fongiques.

REFERENCES

- [1] Benbelkacem A., 2009, Analyse et discussion sur l'évaluation des potentialités de l'amélioration des plantes et des biotechnologies, rapport : Asie de l'ouest et Afrique du nord, Global PartnerShip Initiative for plant Breeding Capacity Building, 36p.
- [2] Glawe D.A., 2008. The Powdery Mildews: A Review of the World's Most Familiar (Yet Poorly Known) Plant Pathogens, *Annu. Rev. Phytopathol.*, Vol. 46, 27-51
- [3] Liu S., Griffey C.A., Hall M.D., Chen J., Liu S., Tucker D., & Brooks W.S., 2012. Registration of "Becker"/"Massey" wheat recombinant inbred line mapping population, *J. of Plant Registr.*, Vol. 6, 358-362.
- [4] Maxwell J.J., Srnic G., Murphy J.P., Cowger C., Parks R., Marshall D., Brown-Guedira J., & Miranda L., 2012. Mincd1: A novel *Agilops tauschii*-derived Powdery mildew resistance gene identified in common wheat, *Crop. Sci.*, Vol. 52, 1162-1170.
- [5] Tomás A. & Solís I., 2000. Effects of Powdery mildew (*Blumeria graminis*) severity on durum wheat cultivars, *Options Méditerranéennes – CIHEAM*, 417-419.
- [6] Gao H., Zhu F., Jiang Y., Wu J., Yan W., Zhang Q., Jacobi A., & Cai S., 2012. Genetic analysis and molecular mapping of a new powdery mildew resistant gene Pm46 in common wheat, *Theor. Appl. Genet.*, Vol., 125, 967-973.
- [7] Michel V., 2001. La sélection de variétés de blé et de triticale résistantes aux maladies, *Rev. Suisse Agric.*, Vol. 33(4), 133-140.
- [8] Berger S., Sinha A.K. & Roitsch T., 2007. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. *J. of Experiment. Bot.*, Vol. 58, 4019-4026.
- [9] Colmer T.D., Epstein E. & Dvorak J., 1995. Differential solute regulation in leaf blades of various ages in salt sensitive wheat and a salt tolerant wheat X *lophopyrum elongatum* (host)A, Löve amphiploid, *Plant Physiol.*, Vol. 108, 1715-1724.
- [10] Mohammadkhani N. & Heidari R., 2008. Drought-induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties, *World Appl. Sci. J.*, Vol. 3, 448-453.
- [11] Zerrad W., Maataoui B.S., Hilali S., El Antari S. & Hmyene A., 2008. Etude comparative des mécanismes biochimiques de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. *Leban. Sci. j.*, Vol. 9, 27-36.
- [12] Megdiche W., Ben Amor N., Debez A., Hessini K., R. Ksouri R. & Abdely C., 2009. Physiological and biochemical traits involved in the genotypic variability to salt tolerance of tunisian *Cakile maritime*, *Afric.J. of Ecol.*, Vol., 47, 774-783.
- [13] El Yacoubi H., Ayolié K. & Rochdi A., 2010. *In vitro* cellular salt tolerance of Troyer citrange: changes in growth and solutes accumulation in callus tissue, *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 12, 187-193.
- [14] Grant T.N., Dami I.E., Ji T., Scurlock D. & Streeter J., 2009. Variation in leaf and bud soluble sugar concentration among *Vitis* genotypes grown under two temperature regimes, *Can. J. of plant Sci.*, Vol. 89, 961-968.
- [15] Yuanyuan M., Yali Z., Jiang L. & Hongbo S., 2009. Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress, *Afric. J. of Biotech.*, Vol. 8 (10), 2004-2010.
- [16] Ben Hassine A. & Sadok B., 2008. Evaluation des capacités de résistance d'*Atriplex halimus* L. face au cadmium, *Geo-Eco-Trop.*, Vol. 32, 17-20.
- [17] Korn M., Peter K.S., Mock H.P., Heyer A.G., & Hinch D.K., 2008. Heterosis in the freezing tolerance, and sugar and flavonoid contents of crosses between *Arabidopsis thaliana*, accessions of widely varying freezing tolerance, *Plant cell. and Env.*, Vol. 31, 813-827.
- [18] Gomez-Ariza J., Campo S., Rufat M., Estopa M., Messeguer J., San Segundo B., & Coca M., 2007. Sucrose-mediated priming of plant defense responses and broad-spectrum disease resistance by overexpression of the maize pathogenesis-related PRms protein in rice plants, *Mol. Plant Micr. Interact.*, Vol. 20, 832-842.
- [19] Sahoo M.R., Dasupta M., Kole P.C., & Mukherje A., 2010. Biochemical changes in Leaf tissues of Taro [*colocasia esculenta* L. (scholt)] infected with *Phytophthora colocasiae*, *J. of Phytopathol.*, Vol., 158, 154-159.
- [20] Essmann J., Bones P., Weis E., & Scharte J., 2008. Leaf carbohydrate metabolism during defense: Intracellular sucrose-cleaving enzymes do not compensate repression of cell wall invertase, *Plant Signal. Behav.*, Vol. 3, 885-887.
- [21] Bouthiba A., & Debaeke P., 2009. Besoins en eau de différentes variétés de blé dur en conditions semi-arides, Symposium international en Agriculture durable en région Méditerranéenne (AGDUMED), Rabat, Maroc, 14-16 mai.
- [22] Boufenar-Zaghouane F. & Zaghouane O., 2006. Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). Ed. ITGC-ICARDA, Alger 154p.
- [23] Shields R. & Burnett W., 1960. Determination of protein bound carbohydrate in serum by a just modified anthrone method, *Anal. Chem.*, Vol. 32, 885- 886.
- [24] Clarke J.M. & Mc caig T., 1982. Excised leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes, *Can J. of Plant Sci.*, Vol. 62, 571-587.

[25] Clarke J.M., Romagosa I., Jana S., Srivastava J.P. & Mc caig T.N., 1989. Relation of excised leaf water loss rate and yield of durum wheat in diverse environments, *Can. J. plant Sci.*, Vol. 69, 1057-1081.

[26] Paul M.H., Planchton C., Ecochard R., 1979. Etude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement et la productivité chez le soja, *Ann. Amélio. Plant.*, Vol. 29, 479-492.

[27] Swarbrick P.J., Schulze-Lefert P. & Scholes J.D., 2006. Metabolic consequences of susceptibility and resistance (race-specific and broad-spectrum) in barley leaves challenged with powdery mildew, *Plant Cell. & Environ.*, Vol. 29 (6), 1061-1076.

[28] Ramel F., 2009. Implication des sucres solubles dans les réponses aux stress xénobiotique et oxydatif chez *Arabidopsis thaliana*, thèse de doctorat, Université de Rennes 1, France. 231p.