

La résistance au stress hydrique chez le blé dur : Comparaison des comportements au niveau cellulaire et au niveau de la plante entière

Bajji M., Lutts S., Kinet J.M.

in

Royo C. (ed.), Nachit M. (ed.), Di Fonzo N. (ed.), Araus J.L. (ed.).
Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges

Zaragoza : CIHEAM

Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 40

2000

pages 227-231

Article available on line / Article disponible en ligne à l'adresse :

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=600034>

To cite this article / Pour citer cet article

Bajji M., Lutts S., Kinet J.M. La résistance au stress hydrique chez le blé dur : Comparaison des comportements au niveau cellulaire et au niveau de la plante entière. In : Royo C. (ed.), Nachit M. (ed.), Di Fonzo N. (ed.), Araus J.L. (ed.). *Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges* . Zaragoza : CIHEAM, 2000. p. 227-231 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 40)



<http://www.ciheam.org/>
<http://om.ciheam.org/>

La résistance au stress hydrique chez le blé dur: Comparaison des comportements au niveau cellulaire et au niveau de la plante entière

M. Bajji, S. Lutts et J.M. Kinet

Laboratoire de Cytogénétique, Université catholique de Louvain, 5 (bte 13) Place Croix-du-Sud,
B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique

RESUME – Les effets d'un déficit hydrique induit par du polyéthylène glycol (PEG) ont été étudiés à la fois au niveau du cal et au niveau de la plante entière chez 3 cultivars (cvs) de blé dur différant par leur niveau de résistance à la sécheresse. Divers paramètres ont été évalués durant la période de stress mais aussi après une phase de récupération qui lui succède. Nos résultats montrent qu'il existe une corrélation positive entre les performances en champs des cvs en conditions de sécheresse et les réponses des cals à un stress osmotique suggérant que, chez le blé dur, la résistance à la sécheresse au sein de la plante entière dépend, du moins en partie, de l'existence de mécanismes opérant au niveau cellulaire. Le comportement du cal vis-à-vis du stress n'est cependant pas toujours similaire à celui de la plante entière et la prise en considération de ces deux niveaux d'organisation apparaît nécessaire pour une meilleure compréhension de la complexité des mécanismes permettant à la plante de faire face au stress.

Mots-clés : Ajustement osmotique, blé dur, stress osmotique, résistance à la sécheresse.

SUMMARY – “Resistance to water stress in durum wheat: Comparison of cell and whole seedling behaviours”. The effects of polyethylene glycol (PEG)-induced water deficit were studied at both callus and whole seedling levels using 3 durum wheat cultivars (cvs) differing in drought resistance. Various parameters were evaluated after the stress period but also after a subsequent recovery phase. Our data show that a positive correlation exists between the recognised field performances of the cvs under drought and the responses of calli to osmotic stress suggesting that, in durum wheat, drought resistance at the plant level depends, at least partly, on mechanisms operating at the cellular level. Callus behaviour under stress is however not always similar to that of the whole seedling and considering these two organisational levels a better understanding of the mechanism complexity allowing the plant to cope with stress seems necessary.

Key words: Osmotic adjustment, durum wheat, osmotic stress, drought resistance.

Introduction

Chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.), la sécheresse est une des causes principales des pertes de rendement, qui varient de 10 à 80% selon les années, en région méditerranéenne (Nachit *et al.*, 1998). Une meilleure compréhension des mécanismes physiologiques impliqués dans la résistance au stress hydrique est de ce fait indispensable en vue de la sélection de cvs résistants chez cette espèce. L'ajustement osmotique (AO) apparaît aujourd'hui comme un mécanisme majeur d'adaptation des plantes à ce stress (Zhang *et al.*, 1999). Cependant, en dépit de l'abondante littérature consacrée à ce mécanisme, il n'existe, à l'heure actuelle, qu'un nombre limité de travaux se rapportant au blé dur (Kameli et Lösel, 1995; Rekika *et al.*, 1998; Bajji *et al.*, 1999).

L'objectif du présent travail est, dès lors, de réaliser une étude du comportement du blé dur confronté à un stress osmotique, comparativement au niveau cellulaire (cals) et au niveau de la plante entière (système racinaire et partie aérienne). Différents paramètres [poids frais (PF), contenu en eau (CE), potentiel osmotique (Ψ s) et concentrations en proline et en sucres solubles] ont été évalués après un stress induit par le PEG et après une phase consécutive de récupération chez 3 cvs différant par leur niveau de résistance à la sécheresse.

Matériels et méthodes

Trois cvs de blé dur (*Triticum durum* Desf.) ont été utilisés dans cette étude: Kabir 1, sensible à la sécheresse; Omrabi 5 et Haurani, résistants (Simane *et al.*, 1993; Ali Dib *et al.*, 1994). Les graines nous ont été fournies par l'ICARDA (Alep, Syrie) et l'ENSA-INRA (Montpellier, France). L'obtention et les conditions de culture des cals et des plantes ont été réalisées conformément aux modalités décrites par Bajji (1999). Les cals ont été initiés à partir d'embryons matures et cultivés sur milieu LS (Linsmaier et Skoog, 1965) pendant 3 mois avant d'être soumis à 0, 10 et 20% de PEG durant 30 jours. A l'issue de cette période de stress, une partie du matériel a été transférée sur un milieu dépourvu de PEG et la culture a été poursuivie pendant 30 jours. Pour les plantes entières, après désinfection et germination des graines, les plantules obtenues ont été acclimatées sur une solution nutritive d'Hoagland modifiée (Gulick et Dvorák, 1987) pendant 15 jours avant d'être soumises, comme pour les cals, à 0, 10 et 20% de PEG durant 7 jours. Une moitié du matériel a été analysée après le stress et l'autre moitié après 7 jours de culture en l'absence du stress. A la fin de chaque période (stress ou récupération), les PF des cals, des racines et des parties aériennes ainsi que leurs poids sec (PS) ont été enregistrés. Le CE des tissus a été calculé à l'aide de la formule $(PF-PS)/PS$. Le suc tissulaire des cals, racines et feuilles a été récolté après un cycle de congélation/décongélation et centrifugation; son Ψ_s et ses teneurs en proline (Bates *et al.*, 1973) et en sucres solubles (Yemm et Willis, 1954) ont été estimés. Les valeurs du Ψ_s ainsi que les concentrations en proline et en sucres ont été rapportées à un CE égal à celui des tissus non stressés, afin de pouvoir analyser les variations de ces concentrations en relation avec le processus d'AO. Les expériences ont été répétées 2 fois avec des résultats similaires. Pour chaque période (stress ou récupération) et pour chaque type de matériel (cals, racines ou feuilles), un minimum de 6 répétitions a été réalisé, et les données ont été soumises à une analyse de variance (Anova 2) en utilisant le cultivar (cv.) et la concentration en PEG comme variables.

Résultats et discussion

Au niveau des cals des 3 cvs, le PEG induit une réduction du PF, particulièrement marquée et significative, quelle que soit la concentration en PEG, chez Kabir 1 (Fig. 1). Le comportement des 3 cvs, au niveau cellulaire, est donc cohérent avec leurs performances en champs en conditions méditerranéennes où ils sont confrontés à la sécheresse (Simane *et al.*, 1993; Ali Dib *et al.*, 1994). Ce fait suggère qu'un mécanisme de résistance, opérant au niveau cellulaire, pourrait être impliqué, du moins en partie, dans la résistance au stress hydrique au niveau de la plante entière chez le blé dur. Une corrélation positive entre le comportement de cals en présence d'un stress osmotique et le niveau de résistance à la sécheresse des plantes a également été mise en évidence par Trivedi *et al.* (1991) chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Trente jours après le retrait du PEG du milieu, les cals des différents cvs ont retrouvé un PF statistiquement comparable à celui des cals qui n'ont jamais été soumis au stress. Au niveau de la plante entière (Fig. 1), le PEG induit également une réduction significative du PF chez les 3 cvs. Cette réduction est d'autant plus importante que la concentration en PEG augmente dans le milieu; elle n'est pas statistiquement significative chez Haurani cultivé en présence de PEG à 10%. Le système racinaire est moins affecté que la partie aérienne à la plus faible intensité de stress entraînant une augmentation du rapport Système racinaire/Partie aérienne, plus marquée dans le cas des 2 cvs résistants (Bajji, 1999). Une croissance soutenue du système racinaire en conditions de stress serait, selon certains auteurs, un facteur de résistance au stress hydrique (Monneveux et Belhassen, 1996). Sept jours après leur transfert sur milieu non stressant, toutes les plantes préalablement soumises au PEG à 10% ont des PF statistiquement semblables à ceux des témoins. La récupération après le traitement par le PEG à 20% reste incomplète chez Kabir 1 au niveau des racines et chez Omrabi 5 au niveau des systèmes racinaire et aérien. La comparaison des comportements des cals et des plantes entières en présence de la plus forte dose de PEG révèle que les premiers sont beaucoup moins affectés, principalement chez Omrabi 5 et Haurani. L'étude menée au niveau de la plante entière suggère par ailleurs que 2 cvs résistants apparentés (Omrabi 5 provient d'un croisement entre Haurani et Jori C69) peuvent présenter des réponses différentes en terme de croissance.

Le déficit hydrique réduit de manière importante le CE des cals et des tissus de la plante entière (Fig. 1). La réduction est d'autant plus marquée que la dose du PEG dans le milieu est élevée. A la fin de la période de récupération suivant un traitement par le PEG à 10%, le CE de tous les tissus est revenu à un niveau statistiquement comparable à celui des témoins, sauf dans le cas des cals de Kabir 1. Après le traitement par le PEG à 20%, le retour du CE à un niveau témoin, en fin de période de récupération, n'est complet que dans les tissus des plantes entières d'Haurani.

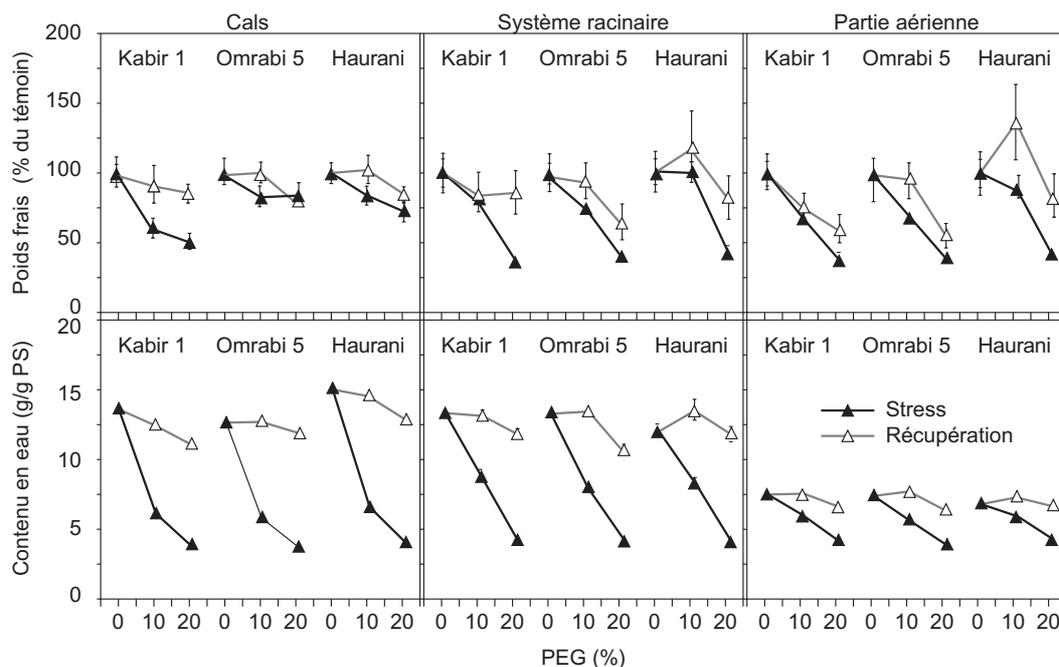


Fig. 1. Evolution du poids frais (% du témoin) et du contenu en eau (g/g PS) aux niveaux des cals, du système racinaire et de la partie aérienne de 3 cvs de blé dur (Kabir 1, sensible; Omrabi 5 et Haurani, résistants) après un stress induit par le PEG et après récupération. Les barres verticales représentent les erreurs standards.

Afin de s'assurer que des changements éventuels du Ψ_s et des concentrations en solutés des tissus résultent, non pas de la déshydratation que nous venons de mettre en évidence, mais d'une accumulation active de solutés, les valeurs du Ψ_s ainsi que les concentrations en sucres et en proline qui sont présentées dans la suite de ce travail ont été corrigées à un même CE, celui des témoins.

Le PEG induit une diminution de Ψ_s du suc extrait des cals, des racines et des feuilles des 3 cvs (Fig. 2). Cette diminution est d'autant plus importante que l'intensité du stress augmente; elle est la plus marquée au niveau des parties foliaires des plantes, particulièrement chez Omrabi 5 suggérant que la résistance à la sécheresse de ce cv. pourrait être associée, non seulement à sa précocité (Mosaad *et al.*, 1995), mais également à sa capacité d'AO. A l'issue de la phase de récupération, le Ψ_s des tissus et organes stressés n'est plus statistiquement différent de celui des témoins (à l'exception du seul cas des cals d'Haurani préalablement exposé à 20% de PEG).

Les cals ont des concentrations en sucres solubles plus élevées que la plante entière (Fig. 2). Ce fait est vraisemblablement dû à la présence de saccharose en concentration élevée dans le milieu de culture *in vitro*. Au niveau des cals, aucune tendance claire ne se dégage quant à l'effet du PEG sur l'évolution des concentrations en sucres. Après 30 jours de récupération, celles-ci ont tendance à être supérieures à celles des témoins, principalement après une exposition préalable au PEG à 20%. Le déficit hydrique induit, par contre, une nette accumulation des sucres dans les plantes intactes, plus importante dans la partie foliaire en particulier chez Omrabi 5. Sept jours après la fin du stress, les teneurs en sucres des racines et des feuilles sont revenues au niveau de celles des témoins. L'accumulation de sucres solubles au niveau de la plante entière, notamment de sa partie foliaire a également été observée par Kameli et Lösel (1995) et Rekika *et al.* (1998). Le fait qu'elle ne se produise pas dans les cals suggère qu'elle pourrait ne pas constituer une stratégie spécifique de résistance à la sécheresse chez le blé dur, tout en contribuant cependant à la résistance de la plante. Elle pourrait être la conséquence indirecte d'un effet du stress plus marqué sur la croissance des plantes que sur leur activité photosynthétique (Bajji, 1999).

En présence de PEG, la concentration en proline des cals augmente chez les 2 cvs résistants, en particulier chez Omrabi 5. Aux niveaux racinaire et foliaire, les teneurs en proline augmentent principalement en réponse à la plus forte dose de PEG; cette augmentation est plus marquée au niveau foliaire surtout chez les 2 cvs résistants. A la fin de la phase de récupération, les teneurs en proline retournent aux niveaux des témoins. Des résultats contradictoires ont été rapportés dans la littérature

quant à l'implication de la proline dans les mécanismes de résistance à la sécheresse chez le blé dur (Kameli et Lösel, 1993; Ali Dib *et al.*, 1994). Notre étude suggère que la proline pourrait participer au processus d'AO mis en oeuvre par le blé dur en conditions de stress hydrique mais démontre que son accumulation est insuffisante pour rendre compte des abaissements de Ψ_s observés. D'autres composés, dont la nature est à déterminer, doivent être impliqués dans l'AO.

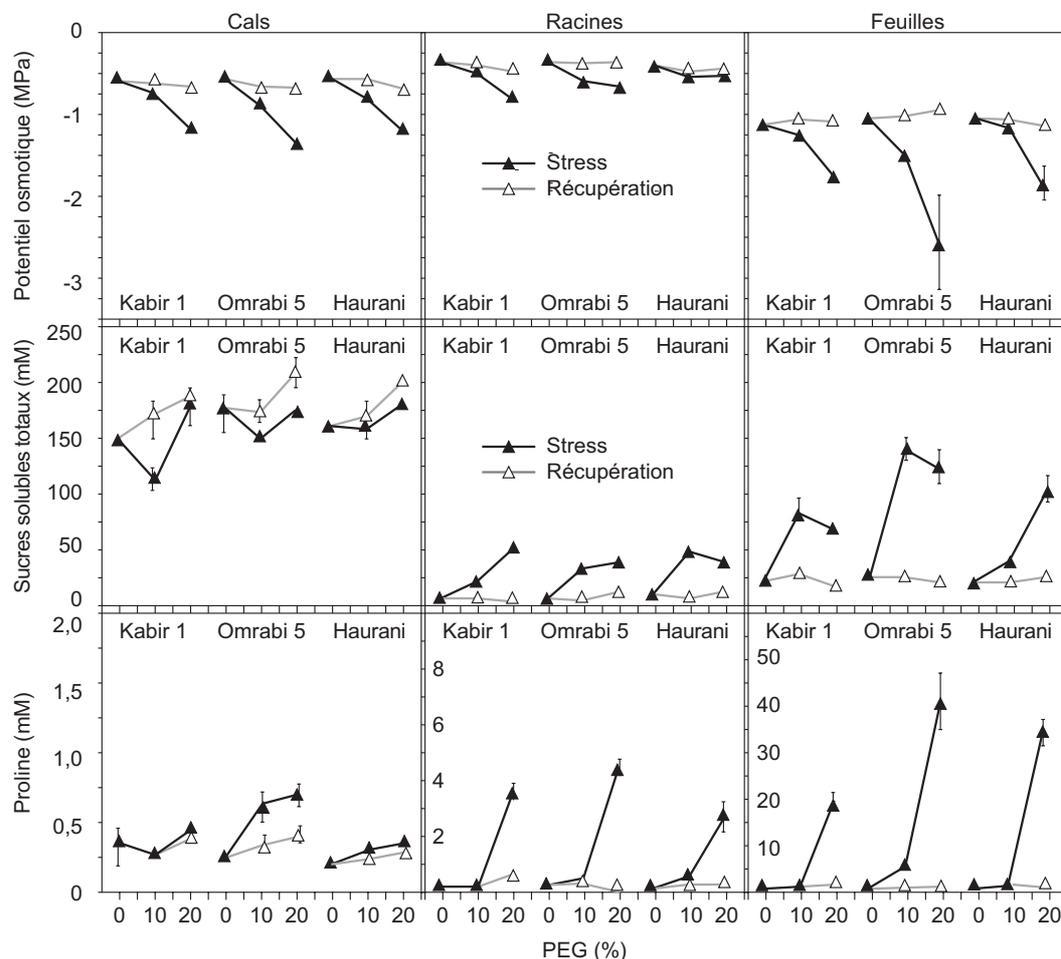


Fig. 2. Evolution du potentiel osmotique (Ψ_s , MPa), des concentrations en sucres solubles totaux et en proline (mM) dans le suc extrait des cals, des racines et des feuilles de 3 cvs de blé dur (Kabir 1, sensible; Omrabi 5 et Haurani, résistants) après un stress induit par le PEG et après récupération. Les valeurs du Ψ_s et des concentrations en solutés ont été corrigées au contenu en eau des témoins. Les barres verticales représentent les erreurs standards.

Conclusions

Dans la présente étude, nous avons exploité les possibilités offertes par les techniques de culture *in vitro* et de culture hydroponique pour préciser, à l'échelle cellulaire et au niveau de la plante entière, le comportement du blé dur en conditions de stress osmotique. L'existence d'une composante cellulaire de la résistance à ce stress a été mise en évidence. La prise en compte des résultats obtenus à la fois aux niveaux cellulaire et de la plante entière apparaît nécessaire pour une meilleure compréhension de la complexité des mécanismes permettant à la plante de résister au stress et constitue à nos yeux une stratégie essentielle dans ce type d'étude.

Remerciements

Cette recherche a reçu le soutien financier de l'AUPELF-UREF.

Références

- Ali Dib, T., Monneveux, P., Acevedo, E. et Nachit, M.M. (1994). Evaluation of proline analysis and chlorophyll fluorescence quenching measurements as drought tolerance indicators in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Euphytica*, 79 : 65-73.
- Bajji, M. (1999). *Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur (Triticum durum Desf.) : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés in vitro*. PhD Thesis, Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve.
- Bajji, M., Lutts, S. et Kinet, J.M. (1999). Physiological changes after exposure to and recovery from polyethylene glycol-induced water deficit in callus cultures issued from durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars differing in drought resistance. *J. Plant Physiol.* (sous presse).
- Bates, L.S., Waldren, R.P. et Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39 : 205-207.
- Gulick, P. et Dvorák, J. (1987). Gene induction and repression by salt treatment in roots of the salinity-sensitive Chinese spring wheat and the salinity-tolerant Chinese spring x *Elytrigia elongata* amphiploid. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 84 : 99-103.
- Kameli, A. et Lösel, D.M. (1993). Carbohydrates and water status in wheat plants under water stress. *New Phytol.*, 125 : 609-614.
- Kameli, A. et Lösel, D.M. (1995). Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *J. Plant Physiol.*, 145 : 363-366.
- Linsmaier, E.M. et Skoog, F. (1965). Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 18 : 100-127.
- Monneveux, P. et Belhassen, E. (1996). The diversity of drought adaptation in the wide. *Plant Growth Regul.*, 20 : 85-92.
- Mosaad, M.G., Ortiz-Ferrara, G., Mahalakshmi, V. et Hamblin, J. (1995). Leaf development and phenology of *Triticum aestivum* and *T. durum* under different moisture regimes. *Plant Soil*, 170 : 377-381.
- Nachit, M.M., Picard, E., Monneveux, P., Labhili, M., Baum, M. et Rivoal, R. (1998). Présentation d'un programme international d'amélioration du blé dur pour le bassin méditerranéen. *Cahiers Agric.*, 7 : 510-515.
- Rekika, D., Nachit, M.M., Araus, J.L. et Monneveux, P. (1998). Effects of water deficit on photosynthetic rate and osmotic adjustment in tetraploid wheats. *Photosynthetica*, 35 : 129-138.
- Simane, B., Struik, P.C., Nachit, M.M. et Peacock, J.M. (1993). Ontogenic analysis of yield stability of durum wheat in water-limited environments. *Euphytica*, 71 : 211-219.
- Trivedi, S., Galiba, G., Sankhla, N. et Erdei, L. (1991). Responses to osmotic and NaCl stress of wheat varieties differing in drought and salt tolerance in callus cultures. *Plant Sci.*, 73 : 227-232.
- Yemm, E.W. et Willis, A.J. (1954). The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.*, 57 : 508-14.
- Zhang, J., Nguyen, H.T. et Blum, A. (1999). Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *J. Exp. Bot.*, 50 : 291-302.