

Contribution à l'étude de la réponse protéique de trois cultivars de blé dur (*Triticum durum* Desf.) au déficit hydrique.

M. F. Hamana-Koriehi

INRAA, Laboratoire de Physiologie Végétale, CRP Mehdi Boualem, BP 37, Baraki, 16210, Alger

Résumé - L'étude a consisté en la comparaison de la réponse protéique de trois cultivars de blé dur (Sham 1, Oued-zénati et Kabir) vis à vis du déficit hydrique. Elle n'a pas permis de mettre en évidence une synthèse de novo des protéines spécifiques au stress hydrique ou en relation avec leurs capacités à l'ajustement osmotique. Une activation et une répression de quelques gènes ont été notés.

blé dur / protéines de stress / déficit hydrique

Abstract - This study consisted in the comparison of the protein response of three durum wheat (Sham1, Oued-zenati, Kabir) toward drought. No de novo synthesis of drought specific proteins has been found, and no direct relation between their protein response and their capacity to osmotic adjustment shown. An activation and a repression of some genes have been noted on the basis of their transcription products.

durum wheat / heat shock like proteins / drought

INTRODUCTION

Les plantes sont souvent sujettes à un grand nombre de stress environnementaux (sécheresse, salinité, hautes et basses températures ...) et ce durant les différents stades végétatifs.

Pour y faire face, les plantes ont au cours du temps développé de nombreuses stratégies d'adaptation, les divers mécanismes impliqués peuvent se situer à divers niveaux d'organisation (cellule, organe ou encore plante entière).

Il existe un grand nombre d'approches visant à décrire, quantifier et analyser les mécanismes conférant aux plantes une tolérance voire une résistance aux divers stress abiotiques. L'une d'elle consiste à identifier les changements quantitatifs et qualitatifs des polypeptides. En effet de nombreux travaux (Heikkila et al, 1984; Lin et al, 1984; Burke et al, 1985; Kimpel et Key, 1985; Ramagopal, 1987; Hurkman et al, 1988; Krishnan et al, 1989; Kimpel et al, 1990; Vierling et Nguyen, 1990) ont montré que les plantes supérieures synthétisaient en réponse à des stress thermiques, salins,

osmotiques et hydriques des groupes de polypeptides de poids moléculaires divers (26 à 90 KDa). Leur rôle n'est pas clairement établi, cependant en se basant sur leurs caractéristiques, ces protéines interviendraient activement dans la réponse au stress (Bohnert et al, 1995). Ainsi certaines pourraient intervenir dans le processus de dessiccation (Blackman et al, 1991) d'autres dans le maintien de l'intégrité cellulaire.

Il existerait une variabilité intraspécifique de ces protéines (Zivy, 1987).

Les objectifs de ce travail préliminaire sont de comparer la réponse protéique de trois cultivars de blé dur (Sham1, Oued-zénati et Kabir), choisis pour présenter des tolérances diverses au déficit hydrique et des capacités à l'ajustement osmotiques variables lorsqu'ils sont soumis à un déficit hydrique modéré, de voir si des protéines spécifiques au déficit hydrique étaient synthétisées et s'il existait des corrélations entre les capacités à l'ajustement osmotique et les réponses protéiques.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

L'expérimentation a concerné trois cultivars de blé dur (*Triticum durum* Desf.): Oued-zénati 368: variété assez précoce sélectionnée dans la population Bidi de la région de Constantine, elle présente une capacité moyenne à l'ajustement osmotique, Sham1 qui est une variété de l'ICARDA (International Centre for Agriculture Research in Dry Areas) précoce, à paille courte, tolérante à la sécheresse présentant une productivité supérieure à Oued-zénati 368 et un indice de récolte élevé (Ali Dib et Monneveux, 1992) ainsi qu'une assez grande plasticité et Kabir, variété productive créée par l'ICARDA présentant une assez grande sensibilité à la sécheresse (Ali Dib et al, 1992).

Condition de culture

Les plantes ont été cultivées dans des pots de polyéthylène de 0.5 l contenant de la vermiculite, à raison d'une plante par pot. L'essai a comporté deux traitements: un lot témoin arrosé régulièrement de solution nutritive Hoagland-Arnon et un lot soumis à un stress hydrique (5 jours d'arrêt d'arrosage, 80% de la capacité au champ).

Extraction des protéines

Des extraits de feuilles et de racines ont été broyés et homogénéisés dans la solution de Laemmli (1970), l'homogénat a été amené à 100° C pendant 3 minutes puis centrifugé (5 mn à 5000 g à 20°C).

Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué à l'aide d'un kit de dosage sigma utilisant le principe de la réduction protéique alcaline du cuivre (CuII).

Support électrophorétique

Le support électrophorétique est constitué de deux gels de polyacrylamide superposés : le gel de séparation (à 12 % d'acrylamide) et le gel de concentration, à 3% d'acrylamide qui permet de filtrer les extraits protéiques en arrêtant les constituants indésirables (amidon, membranes) plus ou moins liés aux protéines.

Poids moléculaire des protéines

Pour évaluer le poids moléculaire des différentes bandes protéiques un kit sigma a été utilisé, il comprenait la phosphorylase b (97.4 KDa), l'albumine de sérum bovin (66.2 KDa), l'ovalbumine (45 KDa), l'anhydrase carbonique bovine (31 KDa), l'inhibiteur de la trypsine de soja (21.5KDa) et une lysozyme (14.4 KDa).

Révélation des gels

La coloration des gels a été effectuée au bleu de coomassie.

RESULTATS

Le dosage des protéines a permis de montrer l'existence de différences entre les plantes témoins et soumises au stress comme l'indique le tableau I.

Les feuilles et les racines des individus soumis au déficit hydrique présentent une concentration en protéines totale plus élevée que les individus témoins. Pour une quantité fixée de protéines totales, la figure 1 représentant le gel montre des différences qualitatives dans les profils protéiques foliaires. Ainsi certaines bandes (flèche a) semblent être plus importantes chez le stressé que chez le témoin, d'autres semblent suivre une tendance inverse (flèche b) c'est le cas en particulier du cultivar Kabir.

Une synthèse *de novo* de protéines spécifiques au stress hydrique n'a pas été observé. Les polypeptides concernés

présentent des poids moléculaires divers (faibles à élevé).

DISCUSSION

Un taux de protéines totales plus élevé est observé chez les plantes stressées, cela peut s'expliquer par la perte en eau subite par les organes entraînant ainsi une concentration plus élevée de protéines par gramme de matière fraîche.

Il semble qu'il y ait une activation de la synthèse de certains polypeptides de poids moléculaires compris entre 34 et 95 KDa. Cela rejoint les résultats de Lin et al (1984), Kimpel et al (1985), Hurkman et Tanaka (1988) et Vierling et Nguyen (1990). Il est à noter que cela est particulièrement le cas de Kabir qui est aussi le cultivar présentant l'ajustement osmotique le plus faible.

Certaines bandes (90.5 KDa) semblent plus importantes chez les témoins, il pourrait alors s'agir d'une répression de certains gènes par la contrainte hydrique, ce type de réponse ayant été observé pour le stress salin chez l'orge par Hurkman et al (1988).

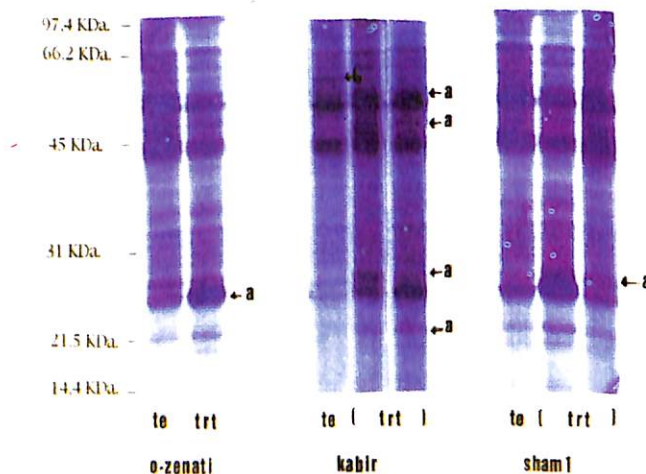


Fig 1. Réponse protéique des trois cultivars face au déficit hydrique O-Zenati = Oued-Zenati, Trt = Traitement, Te = Témoin

Tableau I. Teneur en protéines totales des feuilles et des racines de trois cultivars. Les teneurs sont exprimées en mg/ml d'extrait brut.

Cultivars	Feuilles		Racines	
	Traitement	Témoin	Traitement	Témoin
SHAM I	0.7984	0.7258	0.8856	0.8249
KABIR	0.7444	0.6984	0.7032	0.6869
OUED-ZENATI	0.7804	0.7293	0.7644	0.7555

CONCLUSION

L'essai des protéines n'a pas permis une identification de polypeptides spécifiques au stress hydrique, les conditions sous serre n'ayant pas pu être entièrement contrôlées. Une relation directe n'a pas pu être mise en évidence entre la capacité à l'ajustement osmotique élevée et la réponse protéique. Cependant, une réponse quantitative a été notée.

Le modèle des HSPs (synthèse de protéines induites par une contrainte abiotique et conférant aux plantes une meilleure tolérance) reste cependant très prometteur et il pourrait être très intéressant de caractériser plus en avant les marqueurs biochimiques et moléculaires du stress hydrique.

La nature des produits subissant des modifications au cours du stress pourrait être précisée par des techniques de séparation plus fine telle que l'électrophorèse bidimensionnelle, et l'utilisation d'anticorps spécifiques.

REFERENCES

- Blackman SA, Wettlaufer SH, Obendorfer L, et Léopold AC (1991) Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. *Plant Physiol* 96, 868-874
- Bohnert HJ, Nelson DE, Jensen RG (1995) Adaptations to environmental stresses. *The plant cell* 7, 1999-2011
- Burke JJ, Hatfield JL, Klein RR, Mullet JE (1985) Accumulation of heat shock proteins in field-grown cotton. *Plant physiol* 78, 394-398
- Heikkila JJ, Pap JET, Schultz GA, Derek Bewley J (1984) Induction of heat shock protein messenger by water stress, abscisic acid and wounding. *Plant Physiol* 90, 140-145
- Hurkman WJ, Tanaka CK (1988) Polypeptide change induced by salt stress, water deficit and osmotic stress in barley roots: A comparison using two-dimensional gel electrophoresis. *Electrophoresis* 9, 781-787
- Hurkman WJ, Tanaka CK, Dupont FM (1988) The effect of salt stress on polypeptides in membrane fractions from barley roots. *Plant Physiol* 88, 1263-1273
- Kimpel JA, Key JL (1985) Presence of heat shock mRNAs in field grown soybeans. *Plant physiol* 79, 672-678
- Kimpel JA, Nagao RT, Goekjian V, Key JL (1990) Regulation of the heatshock response in soybean seedlings. *Plant Physiol* 94, 988-995
- Krishnan M, Nguyen HT, Burke JJ (1989) Heat shock protein synthesis and thermal tolerance in wheat. *Plant Physiol* 90, 140-145

- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685
- Lin CY, Roberts JK, Key JL (1984) Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings. Synthesis and accumulation of heat shock proteins and their cellular localization. *Plant Physiol* 74, 152-160
- Ramagopal S (1987) Salinity stress induced tissue specific proteins in barley seedlings. *Plant Physiol* 84, 324-331
- Zivy M (1987) Genetic variability for heat shock proteins in common wheat. *Theor Appl Genet* 74, 209-213