

CRIBLAGE D'INDUCTEURS DE REACTIONS DE DEFENSE CHEZ LE BLE (*Triticum aestivum*) CONTRE L'OÏDIUM (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*)

J. MUCHEMBLED¹, M. SANCHOLLE¹ et A. LOUNES-HADJ SAHRAOUI¹

¹Université du Littoral Côte d'Opale, Laboratoire de Mycologie/Phytopathologie/Environnement, 17, avenue Blériot, BP 699, CALAIS CEDEX. E-mail : lounes@univ-littoral.fr

RESUME

Cette étude a consisté à rechercher des substances biologiques capables d'induire les défenses naturelles du blé (*Triticum aestivum*) contre l'oïdium (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (Bgt)). Des fractions non purifiées dérivées de la plante et/ou des agents pathogènes du blé (broyats foliaires de blé ou de spores de Bgt, hydrolysats du mycélium de *Septoria nodorum* (Sn)) ainsi que des produits purifiés (tréhalose et salicylate d'heptanoyle (SH)) ont été testés lors d'un traitement préventif. L'intensité des protections obtenues a varié en fonction de la nature et de la concentration du produit utilisé. La protection obtenue lors de la pulvérisation du broyat foliaire de blé non infecté a été inférieure (33 %) à celle enregistrée après pulvérisation d'un broyat foliaire de blé infecté par Bgt (46 %). La protection obtenue, suite à la pulvérisation de la plante avec une suspension de spores de Bgt inactivées, a été de 44 %. La diminution d'infection enregistrée après pulvérisation d'un hydrolysats de mycélium d'un autre agent pathogène foliaire du blé (Sn) a été de 33 %. Alors que des pulvérisations préventives de tréhalose à des concentrations de 10 et 15 g/l sur des plants de blé entraînent des diminutions de l'infection de 50 à 60 %, des concentrations de 1 et 5 g/l ne permettent d'enregistrer aucune protection. La pulvérisation préventive de deux autres diholosides, le maltose et le cellobiose à 15 g/l ne permet pas de déceler une protection. Le traitement préventif du blé par le SH a permis d'obtenir une protection très forte (80 %) pour de faibles concentrations en produit (0,1 g/l). L'application de chacun des deux constituants de la molécule pris séparément induit une protection 2 fois plus faible que celle du SH avec l'acide salicylique (AS) et aucune protection avec l'acide heptanoïque (AH).

Mots clés : Blé, *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*, oïdium, inducteurs de défense naturelle, résistance acquise.

ABSTRACT

SCREENING OF BIOLOGICAL MOLECULES INDUCING RESISTANCE TO POWDERY MILDEW IN WHEAT

Wheat powdery mildew, caused by *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (Bgt), is one of the most damaging diseases of wheat (*Triticum aestivum*) especially in Northern France. The study was aiming at screening biological molecules of fungal or plant origin that could enhance resistance to powdery mildew in wheat as an alternative to chemical fungicides. The protection conferred by several non purified fractions originating from leaves of wheat (contaminated or not with Bgt) or from the pathogen agents (Bgt and *Septoria nodorum* (Sn)) were assessed. Protection obtained after treatment with no infected wheat leaves was less important (33 %) than with infected leaves (46 %). The protection recorded after application of inactivated Bgt spores or Sn were about 44 and 33 % respectively. Two other purified molecules, trehalose and heptanoyl salicylic acid (HS), were selected because of their nontoxicity to the environment. Treatment of wheat leaves with the different substances, prior to fungal inoculation, resulted in different levels of protection against Bgt depending on the nature and the concentrations used. The treatment with HS at low concentration (0,1 g/l) allowed a high protection reaching 80 %. Whereas trehalose at 10 and 15 g/l reduced the infection by 50 and 60 % respectively, no protection was observed at 1 and 5 g/l.

Keywords : *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, powdery mildew, wheat, elicitors, induced resistance.

INTRODUCTION

L'oïdium du blé est une maladie cryptogamique causée par *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*). L'infection des feuilles conduit à des pertes de rendement en grains relativement importantes. De nos jours, l'oïdium est responsable de pertes économiques importantes à travers le monde. Les dégâts dus à *Blumeria graminis* (*Bg*) ont été estimés à environ 10 % des récoltes de blé en France ; ce qui représentait une perte annuelle de 2,7 millions de tonnes, soit une valeur de près de 3 milliards de francs en 1992 (Andrivo *et al.*, 1987). L'oïdium est plus dommageable dans la moitié Nord de la France que dans la moitié Sud où l'attaque est faible (Delos *et al.*, 1998). La lutte contre l'oïdium des céréales est une lutte essentiellement chimique et repose sur l'emploi de fongicides. Elle peut être complétée par l'utilisation de cultivars résistants. Ces deux stratégies de lutte contre le pathogène conduisent rapidement à l'évolution de celui-ci. Cela aboutit au contournement de la résistance portée par le cultivar et à l'apparition de pathotypes tolérants aux fongicides employés.

Dans un souci de préservation de l'environnement, l'emploi "raisonné" de fongicides est en plein essor. En effet, de nouveaux produits commerciaux associant une matière active antifongique et des inducteurs de réactions de défense chez les plantes apparaissent sur le marché : le benzothiadiazole, dérivé de l'acide salicylique, inducteur ou biostimulant des défenses chez les plantes, utilisé en association avec un fongicide anti-oïdium (Hukkanen *et al.*, 2007) ; des polysaccharides extraits d'algue (Görlach *et al.*, 1996 ; Walters *et al.*, 2005 ; Reignault et Walters, 2008 ; Bent et Mackey, 2007). Ces inducteurs glucidiques, supplémentés en oligo-éléments capables de stimuler les défenses naturelles de la vigne sont commercialisés comme adjuvants pour bouillies fongicides (Broquedis et Lespy-Labayette, 1995).

La présente étude vise à déterminer des inducteurs originaux capables d'induire des réactions de défense chez le blé pour lutter contre *Bgt*.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL VEGETAL

Une variété de blé tendre, Sidéral (Festival x Arminda), inscrit au catalogue français en 1990 a été utilisée. Elle est dépourvue de gènes de résistance contre l'oïdium.

Le blé a été cultivé dans des pots en tourbe de 8 cm de diamètre, placés dans une enceinte climatisée (Phytotron PG 660, Sanyo) et régulée en photopériode (14 h de jour, 10 h de nuit), température (18 °C le jour et 10 °C la nuit) et humidité (90 % rh).

L'intensité lumineuse de l'enceinte réglée à 20.000 lux (250 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) était fournie par des lampes fluorescentes progressives (32 W) et des lampes au tungstène (60 W) avec une vitesse de flux d'air de 0,2 m.s^{-1} .

MATERIEL FONGIQUE

Deux souches de champignon ont été utilisées : *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*) et *Septoria nodorum* (*Sn*). La première a été conservée sur des feuilles de blé maintenues en survie. Des boîtes de Pétri carrées stériles en polypropylène, de 12 cm de côté et avec ergots de ventilation, ont été utilisées. De l'eau gélosée (7,5 g/l de gélose) additionnée de benzimidazole (facteur antiméiotique, 100 ppm) a été coulée après autoclavage à 120 °C pendant 20 min. Une feuille d'aluminium stérile, de dimensions 11x10 cm, a été déposée à la surface de la boîte de manière à ce qu'il ne reste qu'une fine bande de gélose apparente.

Des feuilles primaires âgées de 10 j ont été prélevées avec une lame stérile et la partie coupée a été plongée dans la gélose à raison de 8 feuilles par boîte. Les boîtes de culture ont été déposées dans une enceinte climatisée, régulée en température (18 °C) et en photopériode (12/12).

La seconde souche a été conservée dans des tubes contenant du milieu solide M23 modifié (Halama, 1991). Ces tubes ont été placés dans une étuve régulée en photopériode (12/12) et température (14 °C). La lumière de Wood (tubes fluorescents Sylvania blacklight blue) a été utilisée pour induire la sporulation du champignon.

TEST D'INHIBITION DE L'INFECTION DU BLE

Les principaux produits utilisés étaient, d'une part, purifiés (tréhalose à 99,5 %, salicylate d'heptanoyle et benzothiadiazole) et d'autre part, non purifiés (broyats foliaires de blé et deux fractions fongiques). Hormis le benzothiadiazole, ces différents produits ont été solubilisés dans du citowett à 0,025 %.

Les broyats foliaires étaient constitués d'environ 15 g de plants sains et frais de blé âgés de 15 j ou de la même quantité de feuilles issues de plants de blé de même âge infectées par l'oïdium (*Bgt*). Après centrifugation pendant 10 min à 10 000 g et 4 °C, le surnageant est collecté et congelé à -20 °C.

Les fractions fongiques étaient composées, d'une part, de 50 mg de spores de *Bgt* et, d'autre part, d'une culture mycélienne de *Sn*.

Les spores de *Bgt* ont été lysées à l'aide d'un homogénéisateur de Potter dans l'eau distillée, puis inactivées pendant une minute.

Quant à la culture mycélienne de *Sn*, elle a été obtenue en milieu liquide agité après inoculation d'une suspension de spores calibrée à 100 000 spores/ml, à raison de 20 ml par dose. Après 12 j de culture, le mycélium est récolté et lavé 3 fois dans 500 ml d'eau distillée.

Après filtration sur Büchner, 15 g de poids frais de mycélium a été dissocié à l'aide d'un ultraturax dans 50 ml d'eau. Le broyat mycélien a été ajouté à 50 ml d'HCl pur. Le mélange a été laissé 3 h sous agitation à la température ambiante avant d'être neutralisé par de la soude 6 N jusqu'à pH 6,5. Une centrifugation de 10 min à 10 000 g/min a permis d'éliminer les débris cellulaires. L'hydrolysate récupéré a été dialysé contre l'eau distillée 2 fois 12 h à 4 °C (Boudin à dialyse de 10.000 Da), puis congelé à -20 °C.

Les tests d'inhibition du développement de l'oïdium du blé ont été réalisés en phytotron sur du blé au stade 3 feuilles âgées de 15 j. Lors des traitements préventifs, les produits testés ont été uniformément répartis à la surface des feuilles de blé grâce à un pulvérisateur (sprayer, Alltech). Chaque lot traité disposait d'un lot témoin constitué de plantes trempées uniquement dans une solution de citowett à 0,025 % (v/v).

Deux types de broyats foliaires, réalisés à partir de feuilles de blé infectées ou non infectées par

Bgt, ont été testés dans le cadre du traitement préventif, afin de vérifier si l'infection du blé par l'oïdium pouvait être inhibée par des composés endogènes à la plante, à l'agent pathogène et/ou spécifiques de l'interaction.

La plante a été pulvérisée, préalablement à la contamination, avec une suspension de spores de *Bgt* inactivées par une lyse suivie d'une ébullition.

Des pulvérisations préventives de concentrations croissantes de tréhalose ont été réalisées sur des plants de blé âgés de 15 j et les effets sur le développement de la maladie recherchés.

Différentes concentrations de Salicylate d'Heptanoyle, dérivé de l'Acide Salicylique (AS), ont également été testées.

Un autre dérivé commercialisé de l'AS est utilisé dans la stimulation de réactions de défense : le benzothiadiazole ou acibenzolar-S-méthyl (Görlach *et al.*, 1996 ; Hukkanen *et al.*, 2007). Ce composé a été testé dans nos conditions expérimentales afin de disposer d'une référence nous permettant de comparer l'efficacité des différents produits, potentiellement inducteurs, testés.

Deux jours après ce traitement préventif, les plantes ont été inoculées par pulvérisation d'une suspension calibrée à 500 000 spores de *Bgt*/ml d'un liquide fluorocarboné (FC43 ou fluorinert, ou heptacosaflo-rottributhylamine, 3M). L'évaluation des symptômes a été faite dès leur apparition (environ 10 j après) par le comptage du nombre de colonies de *Bgt*. Le pourcentage de protection a été calculé par le rapport donné par Reignault *et al.*, 2001 :

$\% \text{ d'infection} = \frac{\text{Nombre de colonies sur feuilles traitées}}{\text{Nombre de colonies sur feuilles témoins}}$

Les différentes expériences ont été répétées en moyenne 3 fois avec un nombre moyen de plantules analysées par répétition égal à 50.

TEST STATISTIQUE

La comparaison des différents résultats obtenus a été réalisée avec un test statistique d'ANOVA en utilisant le logiciel STATGRAPHICS release 4.0 (Manugistic, Inc., Rockville, MD, USA). Les différentes valeurs ont été comparées entre elles grâce à un test paramétrique de Student-Newman-Keuls. Le risque d'erreur de première espèce (α) consenti était de 0,05.

RESULTATS

EFFET DES INDUCTEURS NON PURIFIES PREPARES À PARTIR DU BLE

La diminution d'infection enregistrée lors de la pulvérisation du broyat foliaire de blé non infecté par *Bgt* a été de 33 % tandis que celle enregistrée après pulvérisation d'un broyat foliaire de blé infecté par *Bgt* a été de 46 % (Tableau 1).

EFFET DES INDUCTEURS NON PURIFIES PREPARES À PARTIR DE *Bgt*

La protection de la plante obtenue après pulvérisation préalable à la contamination avec une suspension de spores de *Bgt* inactivées par une lyse suivie d'une ébullition a été de 44 % (Tableau 1).

EFFET DES INDUCTEURS NON PURIFIES PREPARES A PARTIR DE *Sn*

Sn est aussi un pathogène foliaire du blé mais, à la différence de *Bgt*, il est cultivable *in vitro*. Un hydrolysat du mycélium de cet agent pathogène a été testé en traitement préventif. Une protection de 33 % contre l'oïdium du blé due à *Sn* a été enregistrée (Tableau 1).

EFFET DU TREHALOSE

Plus la concentration en tréhalose de la solution pulvérisée a augmenté, plus la protection obtenue vis-à-vis de l'oïdium a été élevée (Figure 2). L'utilisation de fortes concentrations (10 et 15 g/l) a permis d'obtenir une protection de 50 à 60 %. En revanche, l'utilisation de

solutions de tréhalose de plus faible concentration (1 et 5 g/l) n'a pas permis d'enregistrer une protection.

La pulvérisation préventive de deux autres solutions de diholosides, le maltose (4-D-glucopyranosyl- α -D-glucopyranose) et le cellobiose (4-D-glucopyranosyl- β -D-glucose) de 15 g/l ne permet pas de déceler une protection (Tableau 1).

EFFET DU SALICYLATE D'HEPTANOYLE (SH)

La pulvérisation préventive d'une solution de SH a diminué l'infection du blé causée par *Bgt*. Cette diminution de l'infection a varié avec la concentration de la solution puisque des concentrations de 0,1 et 1 g/l ont occasionné respectivement des protections de 34 et 70 % (Figure 3).

Les effets individuels de l'AS et de l'acide heptanoïque (AH), ont été recherchés, en pulvérisant séparément ces composés lors de traitements préventifs. Les effets de la pulvérisation de solutions d'AS et d'AH sur le développement de l'oïdium ont été comparés à l'effet de la pulvérisation d'une solution de SH à 0,1 g/l (Tableau 1).

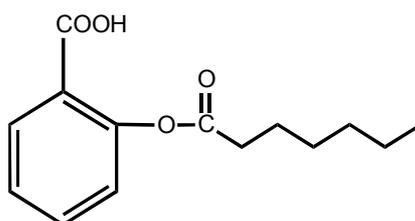
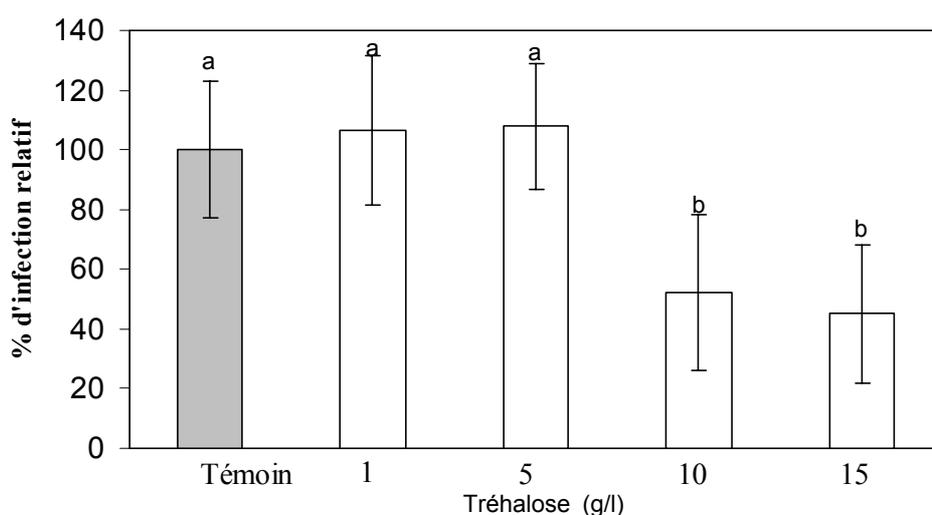
La pulvérisation préventive d'une solution de 0,1 g/l (400 μ M) de SH a entraîné une diminution des symptômes de l'oïdium de 35 %. La pulvérisation de 400 μ M d'AS a montré une protection inférieure (20 %). L'AH n'a provoqué aucune protection contre *Bgt*.

EFFET DU BENZOTHIADIAZOLE

La pulvérisation préventive de benzo-thia-diazole à la concentration préconisée lors de traitements en champ (soit 0,15 g/l) offre une diminution moyenne de l'infection de 35 % (Tableau 1).

Tableau 1 : Bilan des protections enregistrées à l'issue du criblage de différents inducteurs potentiels de réactions de défense chez le blé.*Protections recorded with different molecules tested against wheat powdery mildew*

Paramètres	Taux moyen de pourcentage (%)
<i>Inducteurs non purifiés</i>	
Broyat foliaire de blé	33 ± 4
Broyat foliaire de blé infecté	46 ± 8,5
Spores de <i>Bgt</i>	44 ± 10
Hydrolysat de <i>Sn</i>	33 ± 3,4
<i>Inducteurs purifiés</i>	
Tréhalose (15 g/l)	47,5 ± 7
Maltose (15 g/l)	1,5 ± 0,8
Cellobiose (15 g/l)	2,7 ± 0,9
SH (1 g/l)	70 ± 10
SH (0,1 g/l = 400 µM)	35 ± 4,2
AS (400 µM)	15 ± 10
AH (400 µM)	2,5 ± 0,7
Benzothiadiazole (0,15 g/l)	35 ± 8,1

**Figure 1** : Structure chimique de la molécule de Salicylate d'Heptanoyle.*Structure of heptanoyl salicylic acid (2-OH benzoic acid esterified by heptanoic acid).***Figure 2** : Effet de la pulvérisation préventive de différentes concentrations de tréhalose (g/l) sur le développement de l'oidium.*Effect of different trehalose concentrations (g/l) on mildew infection in wheat.*

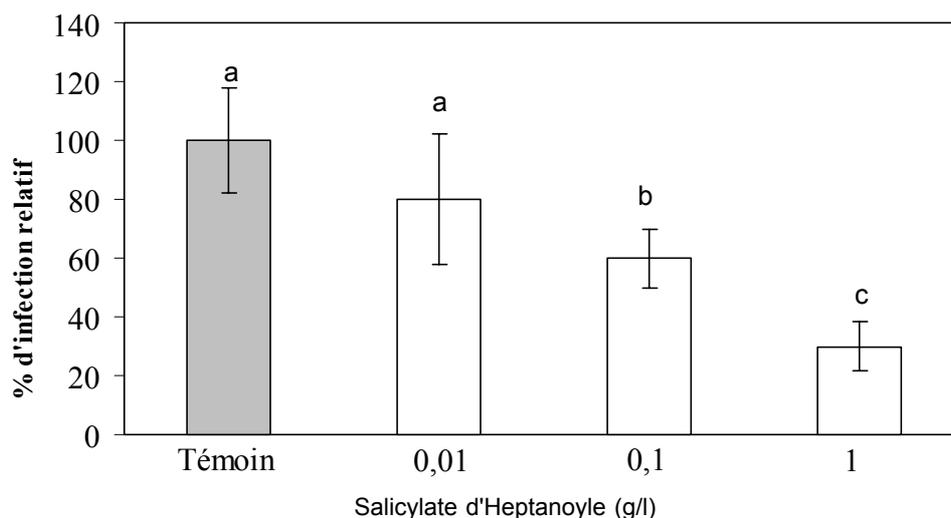


Figure 3 : Effet de la pulvérisation préventive de différentes concentrations de Salicylate d'Heptanoyle (SH) (g/l) sur le développement de l'oïdium.

Effect of different concentrations of SH (g/l) on mildew infection in wheat.

DISCUSSION

Le blé est une culture vivrière importante, particulièrement soumise aux attaques de l'oïdium. La lutte contre cet agent pathogène passe par l'épandage de quantités importantes de fongicides. Dans le but de protéger l'Environnement, la recherche dans l'industrie phytosanitaire s'oriente aujourd'hui vers le développement et l'utilisation de molécules biologiques moins polluantes présentant les mêmes propriétés protectrices. Ce travail a consisté à rechercher des substances biologiques capables d'induire les défenses naturelles du blé (*Triticum aestivum*) contre l'oïdium (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*)). Des fractions non purifiées dérivées de la plante et/ou des agents pathogènes du blé (broyats foliaires de blé ou de spores de *Bgt*, hydrolysats du mycélium de *Septoria nodorum* (*Sn*)) ainsi que des produits purifiés (tréhalose et salicylate d'heptanoyle (SH)) ont été testés lors d'un traitement préventif.

La protection obtenue avec le broyat foliaire serait due à la libération d'une multitude de composés inducteurs correspondant à des glucides associés à la paroi cellulaire comme les oligogalacturonides. En effet, ces composés ont été décrits comme inducteurs de réactions de défense chez les plantes (Albersheim *et al.*, 1992 ; Creelman et Mullet, 1997 ; Spiro *et al.*, 1998).

L'association de composés présents chez la plante et chez le champignon, ou générés dans le cadre de l'interaction plante/pathogène, a présenté une meilleure protection du blé que dans le cas de composés strictement endogènes à la plante. En effet, le broyat de blé infecté par *Bgt* contiendrait un mélange d'inducteurs endogènes à la plante et d'inducteurs d'origine fongique. Lors du broyage, des enzymes de blé telles que les chitinases (Ride et Barber, 1990) et les α 1,3 glucanases (Okinaka *et al.*, 1995) ont pu libérer, à partir des spores de *Bgt*, des fragments inducteurs comme les oligomères de chitine ou les α 1,3 glucanes.

Afin de savoir si la différence de protection entre les deux broyats est due à la présence de composés présents chez *Bgt*, l'effet de fractions non purifiées préparées à partir de cet agent pathogène a été étudié. La diminution d'infection observée suite au traitement par une suspension de spores de *Bgt*, inactivées par une lyse suivie d'une ébullition, pourrait être attribuée à des composés présents dans les spores et libérés lors de la lyse et/ou lors de l'augmentation de température. Dans cette fraction, se trouve un mélange de composés, provenant de la surface des spores ou de leur contenu. Les résultats obtenus par Kristensen et Smeedegaard-Petersen (1997) ont montré que des composés internes aux conidies d' *Erisiphe graminis* f.sp. *hordei* (*Egh*), qui ne seraient pas associés à la paroi cellulaire, ont été responsables de

l'induction d'une protection chez l'orge. Ces mêmes composés sont probablement présents dans l'extrait obtenu à partir des spores lysées de *Bgt* et pourraient être responsables de la protection observée. De même, nos résultats montrent que l'augmentation de la protection enregistrée après pulvérisation d'un hydrolysât du mycélium d'un autre agent pathogène foliaire du blé (*Sn*) indique qu'un ou plusieurs composés, libérés à partir du mycélium de *Sn* lors de l'hydrolyse, ont été responsables de la diminution de l'infection par une stimulation de réactions de défense du blé. Ces substances pourraient être des polysaccharides provenant des parois mycéliennes.

Lors de cette étude, deux molécules purifiées, le tréhalose et le SH, se sont montrées plus efficaces contre l'oïdium du blé par comparaison à un autre dérivé commercialisé de l'AS, le benzothiadiazole. Avec le tréhalose, la protection n'est obtenue qu'à des concentrations élevées. Ceci indique qu'une forte concentration de tréhalose est nécessaire pour induire les défenses naturelles du blé et protéger, ainsi, le blé contre l'oïdium. En effet, le caractère hydrophile marqué de la molécule, ne permet pas sa pénétration au travers de la barrière hydrophobe qu'est la cuticule. Une partie uniquement de la quantité du produit pulvérisé pourra pénétrer dans les tissus végétaux, à travers les stomates par exemple.

La pulvérisation préventive de deux autres solutions de diholosides, le maltose (4-D-glucopyranosyl- α -D-glucopyranose) et le cellobiose (4-D-glucopyranosyl- β -D-glucose) à 15 g/l ne permet pas de déceler une protection. Ceci indique que la protection enregistrée pourrait être due à la structure particulière de la molécule de tréhalose et plus particulièrement au type de liaison osidique (α 1,1) qui pourrait être à l'origine d'un signal d'activation des réactions de défense reconnu spécifiquement par un récepteur de la plante (Fligmann *et al.*, 2004).

La pulvérisation préventive d'une solution de SH, composé original dérivé de l'Acide Salicylique (AS), diminue l'infection du blé causée par *Bgt*. L'AS est une molécule qui intervient dans les mécanismes de défense des plantes. Il est impliqué dans le déclenchement du burst oxydatif par augmentation de la concentration en H_2O_2 . En effet, des études ont démontré que cette molécule se fixait sur la catalase et inhibait ainsi

la dégradation de H_2O_2 (Chen *et al.*, 1993). H_2O_2 et d'autres formes actives de l' O_2 peuvent agir comme messagers secondaires et activer l'expression des gènes en relation avec les défenses de la plante (Zhou *et al.*, 1998). Le SH est constitué d'une molécule d'acide 2-hydroxy benzoïque (AS) dont le groupement hydroxyle est estérifié par l'acide heptanoïque (AH). L'effet protecteur induit par la pulvérisation d'une solution de SH serait dû à la présence de l'AS dans l'ester. En effet, l'AH ne peut être impliqué dans cette protection puisque nos résultats ont montré que l'AH ne provoque aucune protection contre *Bgt*.

La diminution d'infection consécutive à la pulvérisation du SH est donc bien due à la présence de l'AS dans l'ester de synthèse. Mais comment expliquer qu'à nombre de molécules d'AS identique, la pulvérisation de la solution de SH induit une protection de 35% alors qu'elle n'est que de moitié dans le cas de la pulvérisation de la solution d'AS ? Deux hypothèses sont envisageables.

Premièrement, l'acide 2-hydroxy benzoïque seul est capable d'induire une protection contre l'oïdium du blé. L'estérification par l'AH du groupement hydroxyle de cet acide provoquerait un changement de la configuration tridimensionnelle de l'AS qui pourrait être responsable de l'augmentation de la protection. Cette hypothèse n'est, toutefois, vraisemblable que si le SH pénètre à travers la cuticule des feuilles, donc, dans les tissus végétaux et si la liaison ester entre l'acide 2-hydroxy benzoïque et l'AH n'est pas clivée par les nombreuses activités estérases présentes dans les tissus de plante (Haslam *et al.*, 2001).

Dans un second temps, l'AS étant une molécule relativement polaire, son passage à travers la barrière hydrophobe, que constitue la cuticule, est peu probable et, par conséquent, la protection enregistrée a été faible. L'estérification de l'acide 2-hydroxy benzoïque par l'AH relativement apolaire grâce à sa chaîne hydrocarbonée, a diminuée la polarité de l'acide 2-hydroxy benzoïque ; ce qui facilite sa pénétration au travers de la cuticule hydrophobe. L'AH contribue à l'augmentation de la protection induite essentiellement en augmentant la pénétration du SH.

Aucun des produits utilisés, n'a provoqué de nécrose au niveau des feuilles, ce qui signifie qu'aucun d'eux ne présentait de phytotoxicité immédiate. Les molécules ou les mélanges

bruts pulvérisés pourraient induire une protection contre l'oïdium du blé suivant plusieurs modalités :

- soit directement par inhibition de la germination ou de la différenciation de l'appressorium du tube germinatif appressorial des spores de *Bgt* ;
- soit indirectement par inhibition de la croissance de l'agent pathogène en induisant des mécanismes de défense ;
- soit en agissant à la fois directement comme inhibiteurs des stades de la germination et indirectement comme inducteurs de la résistance acquise.

Les trois hypothèses ci-dessus sont liées à une éventuelle pénétration, partielle ou totale, des composés pulvérisés. En effet, il est difficile de connaître le devenir des composés après leur pulvérisation. Cependant, il est possible d'émettre des hypothèses dans le cas des inducteurs potentiels purifiés dont les propriétés physico-chimiques sont connues.

Le benzothiadiazole et l'AS, composés non fongitoxiques, sont capables de pénétrer dans la plante et d'induire une résistance acquise (Görlach *et al.*, 1996 ; Schaffrath, 1997 ; Hukkanen *et al.*, 2007). Pour le même nombre de molécules, la protection offerte par la pulvérisation du SH est deux fois plus importante que la protection offerte par l'AS. L'AS étant un inducteur de la résistance acquise, il est probable que le SH le soit également. Il semble donc que le SH est un meilleur inducteur de la résistance acquise que l'AS grâce à une meilleure pénétration de celui-ci sous forme estérifiée que sous forme libre. Pour démontrer que le SH est un inducteur de la résistance acquise, il faudrait vérifier que les gènes WCI (pour "Wheat Chemical Induction") soient bien induits par cette molécule.

L'activation des mécanismes de défense chez la plante en réponse à la pulvérisation d'inducteurs potentiels peut être démontrée également par dosage des activités enzymatiques impliquées dans les réactions de défense du blé comme la phénylalanine ammonia lyase, les peroxydases, la cinnamoyl alcool deshydrogénase (Stadnik et Buchenauer, 2000 ; Reignault *et al.*, 2001 ; Randoux *et al.*, 2006 ; Renard-Merlier *et al.*, 2007).

CONCLUSION

Cette étude visant à rechercher des substances biologiques capables d'induire les défenses naturelles du blé (*Triticum aestivum*) contre l'oïdium (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*)) a permis de mettre en évidence l'efficacité de deux produits purifiés le tréhalose et le salicylate d'heptanoyle (SH). L'intensité de la protection contre l'oïdium du blé obtenue a varié en fonction de la nature et de la concentration du produit utilisé. Les pulvérisations préventives du tréhalose à 10 et 15 g/l ainsi que du SH à 0,1 g/l ont permis d'obtenir des réductions d'infection supérieures à celle obtenue avec le benzothiadiazole à la concentration préconisée lors de traitements en champ (soit 0,15 g/l).

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Mme M. P. Latorse, Mr. P. Halama, le Prof. D. Couturier et Mr. M. Petit pour nous avoir aimablement fournis les souches de *Bgt* et de *Sn*, le SH et le benzothiadiazole.

REFERENCES

- Andrivon D., Limpert E., F. Felsenstein. 1987. Sensibilité au triadiménol et au fenpropimorphe de populations françaises d'*Erysiphe graminis* DC f. sp. *hordei* Marchal. *Agronomie* 7 : 433 - 446.
- Albersheim P., Darvill A., Augur C., Cheong J. J., Eberhard S., Hahn M. G., Marfa V., Mohnen D., O'Neil M. A., Spiro M. D. and W. S. York. 1992. Oligosaccharins : oligosaccharide regulatory molecules. *Acc. Chem. Res.* 25 : 77 - 83.
- Bent A. F. and D. Mackey. 2007. Elicitors, effectors and R genes : the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annu. Rev. Phyto.* 45 : 399 - 436.
- Broquedis M., Lespy-Labaylette P. et J. Bouard. 1995. Composition en polyamide des grappes de raisin au moment de la floraison : effets de pulvérisations de crème d'algue cryobroyée. *Phytoma* 474 : 33 - 36.

- Chen Z., Silva H. and D. F. Klessig. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science* 262 : 1883 - 1886.
- Creelman R. A. and J. E. Mullet. 1997. Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates : non traditional regulators of plant growth, development, and gene expression. *Plant Cell* 9 : 1211 - 1223.
- Delos M., Lochon S., Murer F., Pillon O., Vergnaud A. et J. Clochon. 1998. Bilan phytosanitaire de la campagne 1996/1997. *Phytoma* 501 : 18 - 21.
- Fliegmann J., Mithöfer A., Wanner G. and J. Ebel. 2004. An ancient enzyme domain in the putative β -glucan. Elicitor receptor of soybean may an active part in the perception of pathogen-associated molecular patterns during broad host resistance. *J. Biol. Chem.* 279 : 1132 - 1140.
- Görlach J., Volrath S., Knauf-Beiter G., Hengy G., Beckhove U., Kogel K., Oosterdorp M., Staub T., Ward E., Kessmann H. and J. Ryals. 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell* 8 : 629 - 643.
- Halama P. 1991. *Phaeosphaeria nodorum* (Müll.) Hedj. (Ex *Leptosphaeria nodorum* Müll.) Téléomorphe de *Septoria nodorum* Berk : Déterminisme et ontogénie - Hérité du pouvoir pathogène. Thèse de Doctorat, Université des Sciences et Techniques de Lille Flandres Artois, 300 p.
- Haslam R., Rveton M., Cole D. J., Pallet K. E. and J. O. D. Coleman. 2001. The identification and properties of apoplastic carboxyle-terases from wheat that catalyse deesterification of herbicides. *71* : 178 - 189.
- Hukkanen A., KoKko H., Buchala A., McDougall G., Stawart D., Kärenlampi S. and R. Karjalainen. 2007. Benzothiadiazole induces the accumulation of phenolics and improves resistance to powdery mildew in strawberries. *J. Agricultural Food Chem.* 55 : 1862 - 1870.
- Kristensen H. J. and V. Smedegaard-Petersen. 1997. Evidence for resistance inducing compounds in conidia of *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*. *J. Phytopathol.* 145 : 455 - 459.
- Okinaka Y., Mimori K., Takeo K., Kitamura S., Takeuchi Y., Yamaoka N. and M. Yoshikawa. 1995. A structural model for the mechanisms of elicitor release from fungal cell walls by plant β -1,3-endoglucanase. *Plant Physiol.* 109 : 839 - 845.
- Randoux B., Renard D., Nowak E., Sanssené J., Courtois J., Durand R. and P. Reignault. 2006. Inhibition of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* germination and partial enhancement of wheat defences by Milsana. *Phytopathol.* 96 : 1278 - 1286.
- Reignault P., Cogan A., Muchembled J., Lounès-Hadj Sahraoui A., Durand R. and M. Sancholle. 2001. Trehalose induces resistance to powdery mildew in wheat, *New Phytol.* 149 : 519 - 529.
- Reignault Ph. and D. Walters. 2008. Topical application of inducers for disease control. In : D. Walters, A. Newton, G. Lyon. (Eds). *Induced Resistance for Plant Defence*. Blackwell Publishing.
- Renard-Merlier D., Randoux B., Nowak E., Farcy F., Durand R. and P. Reignault. 2007. Heptanoyl salicylic acid, salicylic acid, Iodur 40 and trehalose exhibit different efficacies and defense targets during a wheat/ powdery mildew interaction. *Phytopathol.*, 68 : 1156 - 1164.
- Ride J. P. and M. S. Barber. 1990. Purification and characterization of multiple forms of endochitinase from wheat leaves, *Plant Sci.* 71 : 185 - 197.
- Schaffrath U., Freydl E. and R. Dudler. 1997. Evidence for different signaling pathways activated by inducers of acquired resistance in wheat, *Mol. Plant-Microbe Interact.* 10 : 779 - 783.
- Spiro M., Ridley B., Eberhard S., Kates K., Mathieu Y., Oneill M., Mohnen D., Guern J., Darvill A. and P. Albersheim. 1998. Biological activity of reducing-end-derivatized oligogalacturonides in tobacco tissue cultures, *Plant Physiol.* 116 : 1289 - 1298.
- Stadnik M.J. and H. Buchenauer. 2000. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase suppresses the resistance induced by benzothiadiazole in wheat to *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*, *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 57 : 25 - 34.
- Walters D., Walsh D., Newton A. and G. Lyon. 2005. Induced resistance for plant disease controls: maximizing the efficacy of resistance elicitors. *Phytopathol.* 95 : 1368 - 1373.
- Zhou F., Zhang Z., Gregersen P., Mikkelsen J., Deneergaard E., Collinge D. and H. Thordal-Christensen. 1998. Molecular characterization of the oxalate oxidase involved in the response of barley to the powdery mildew fungus. *Plant Physiol.* 117 : 33 - 41