

INVOLVEMENT OF ABIOTIC STRESS TOLERANCE MECHANISMS IN BIOTIC STRESS TOLERANCE IN DURUM WHEAT

S. Hamli^{1,2,*}, K. Kadi^{1,2}, I. Bekhouche², I. Harnane², D. Addad³, A. Abdelmalek¹, N. Harrat²

¹Biotechnology, Water, Environment and Health Laboratory, Faculty of Life and Natural Sciences, Abbes Laghrour Khenchela University, 40000, Algeria

²Department of Agronomy Faculty of Life and Natural Sciences, Abbes Laghrour Khenchela University, 40000, Algeria

³Department of Ecology and environment, Faculty of Life and Natural Sciences, Abbes Laghrour Khenchela University, 40000, Algeria

Received: 22 March 2020 / Accepted: 28 April 2020 / Published online: 01 May 2020

ABSTRACT

The objective of our study is to implicate the mechanisms of tolerance to abiotic stress by the synthesis of metabolites in tolerance to biotic stress. The extracted metabolites; proline, sugars and polyphenols from durum wheat seedlings subjected to heat shock (40 °C), used to test antifungal activity on two fungal strains, powdery mildew and penicillium, under controlled conditions. The boussellam variety is more tolerant of applied stress than the Ciccio and Vitron varieties. The concentration of the three osmolytes varies from one variety to another; it increases in genotypes stressed compared to controls. Antifungal activity results in the appearance of an inhibition zone around the disc impregnated with the studied extract. Sugars have proven to be a highly effective antifungal agent compared to proline and polyphenols with maximum values (28,33 ± 2 mm) in oidium and (29 ± 1 mm) in penicillium.

Keywords: Heat shock, antifungal activity, penicillium, powdery mildew, durum wheat

Author Correspondence, e-mail : sofiahamli@yahoo.fr

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v12i2.15>



1. INTRODUCTION

La croissance et la productivité des céréales, une source importante alimentaire, sont considérablement affectées par des stress biotiques et abiotiques. Le blé est soumis aux attaques de nombreux bioagresseurs comme L'oidium et ceci à différents stades de son développement. Cependant, les plantes ont développé des stratégies d'adaptation pour répondre au changement du milieu en ajustant leurs systèmes métaboliques [1]. La compréhension des mécanismes impliqués dans le développement de la tolérance au stress d'une plante pourrait nous renseigner sur les stratégies utilisées par les plantes et ainsi nous guider pour potentiellement améliorer la productivité de la plante. La recherche de variétés résistances, par des méthodes classiques est longue et onéreuse [2]. Au delà de la sélection classique les développements faits en matière de biotechnologies augmentent les alternatives de recherche en matière de résistance aux stress abiotiques [3]. Les systèmes naturels de protection de la plante face aux agressions biotiques de son environnement figurent parmi les thématiques de recherche actuelle. Les défenses naturelles des plantes utilisent des voies de signalisation complexes souvent liées à celles de réponse aux stress abiotiques. Un aspect moins étudié est celui de la résistance de la plante qui s'opère avant son attaque, lors de sa reconnaissance par le bio-agresseur [4,5]. C'est dans ce contexte que notre recherche fixe pour objectif d'étudier une nouvelle méthode incontournable pour améliorer et impliquer les mécanismes de tolérance au stress abiotique par la synthèse des métabolites via l'ajustement osmotique dans la tolérance aux stress biotique provoqué par des champignons causant des dégâts pour le blé dur.

2. EXPERIMENTATION

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail est constitué de trois variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) Vitron, Bousselam et Ciccio, ont été fournis gracieusement par la direction des services agricoles de la wilaya de Khenchela (DSA). (Tableau 1)

Tableau 1. Nom et pedigree des géotypes utilisés comme matériel végétal

Géotype	Pedigree	Orig- xment	Sélection
Bousselam	Heider/Martes//Huevos de Oro	Cimmyt-Icarda	ITGC-Algérie
Vitron	Turkey ⁷⁷ /3/Jori/Anhinga//Flamingo	Cimmyt-Icarda	ITGC-Algérie
Ciccio	Apolo*valnova/valforte*patrizio	Proseme-Eurogen	Italie

2.2. Dispositif expérimental

2.2.1. Semis

L'expérience a été conduite au laboratoire de Biologie El Hamma université Khenchela, au cours de la période Avril-Mai 2019. Les graines de chaque géotype ont été nettoyées et placées dans des boîtes de Pétri à raison de 20 graines par boîte, entre les feuilles de papier Watman imbibées d'eau pour la germination. Les plantules, ayant une racine longue d'au moins de 1 mm, sont transférées dans des pots de végétation en plastique, à raison de 10 plantules/pot, remplis d'un mélange de sol et de sable, les proportions 1/3 sol : 2/3 sable (v/v). Les pots ont été soumis sous conditions favorable (Température de 25°C) qui correspond à la température de développement de l'espèce étudiée avec une irrigation à la capacité au champ. Les plantules atteignant le stade de 2 feuilles, sont dépotées, la partie racinaire lavée pour éliminer la terre adhérente puis elles sont placées dans un bain marie pour subir un stress thermique dont la température est fixée à 40°C et retirées après 60 minutes [6].

2.2.2. Mesures et notations

2.2.2.1. Dosage de la proline (PRO)

Le dosage de la proline a été fait selon la méthode décrite par [7]. 100 mg de matière fraîche sont prélevés du tiers médian du limbe foliaire des différents géotypes étudiés. Ils sont finement découpés et mis dans des tubes à essai dont la numérotation est faite en fonction des traitements étudiés. On ajoute 2 ml de méthanol à 40% aux différents tubes d'essais qui sont ensuite fermés hermétiquement. Les tubes sont mis dans un bain Marie dont la température a été portée préalablement à 85°C, pendant 1h. Les tubes sont ensuite retirés du bain Marie et mis à refroidir dans un bac à glace pendant 30 minutes. On prépare dans une fiole un mélange (solution A) fait de 120 ml d'eau distillée, 300 ml d'acide acétique et 80 ml d'acide

orthophosphorique ($H_4P_2O_5$). Dans un nouveau jeu de tubes à essai on pipette 1ml de la solution des tubes traités auquel on ajoute 1ml d'acide acétique, 1 ml de la solution A et 25 mg de ninhydrine. Les tubes séjournent ensuite pendant 30 minutes dans un bain Marie, dont la température a été portée préalablement à $100^\circ C$. Le contenu des tubes vire au rouge, on les retire alors du bain Marie pour les laisser refroidir dans un bac à glace. Après quoi on ajoute à chaque tube 5 ml de toluène, on agite fortement jusqu'à séparation de la solution en deux phases superposées, l'une claire surnageante et l'autre plus dense et plus foncée formant le dépôt. On récupère dans un nouveau jeu de tubes à essai bien propre la solution surnageante qui porte la proline et on la déshydrate par addition de $Na_2 SO_4$ anhydre. On pipette cette solution dans des cuvettes en verre poli puis on lit la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre, à la longueur d'onde de 528 nm. La concentration de la proline correspondante à la densité optique lue est déduite de la relation entre la densité optique et la concentration de la proline des échantillons standards utilisés pour construire une courbe d'étalonnage avec la formule :

$$Y=0.012X+0.006 (R^2=0.778)$$

Y= densité optique (nm)

X= concentration de la proline en $\mu g/ml$

2.2.2.2. Dosage des sucres totaux

Les sucres solubles ont été déterminés suivant la méthode dite de phénol /acide sulfurique [8]. 50 mg de matière fraîche, placées dans des tubes à essais, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80% pour faire l'extraction des sucres. On laisse à température ambiante pendant 48 heures à l'obscurité. Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à $80^\circ C$ pour faire évaporer l'alcool. Dans chaque tube on ajoute 20 ml d'eau distillée à l'extrait, c'est la solution à analyser. Dans des tubes à essais propres, on met 1ml de la solution à analyser, on ajoute 1ml de phénol à 5%, les tubes sont soigneusement agités, on ajoute par la suite rapidement 5 ml d'acide sulfurique concentré à l'aide d'une burette dont le jet tombe brutalement sur la surface du liquide après un séjour de 30 minutes à l'obscurité (dans un bain Marie $30^\circ C$) Les mesures d'absorbances sont effectuées à une longueur d'ondes de 485 nm. Les concentrations des sucres solubles ont été déterminées à l'aide d'une courbe d'étalonnage avec la formule : $Y=0.011X+0.01 (R^2=0.825)$.

Y=densité optique (nm)

X= concentration des sucres en $\mu g/ml$

2.2.2.3. Dosage des polyphénols

Le matériel végétale été séché au laboratoire, à température ambiante avant d'être broyés à l'aide d'un mixeur, puis tamisés avec un tamis de 0,5 mm. L'extrait hydro-alcoolique (méthanol 70%) dont 10 g de poudre végétale de chaque traitement a été repris avec 100 ml de méthanol à 70% dans un erlenmeyer de 200 ml. Le mélange a été laissé macérer pendant 24 heures (deux fois pour la même poudre) à la température du laboratoire. Après filtration sur papier filtre, le filtrat est concentré au rota vapeur (HAHNVAPOR) sous vide à la température de 40 °C. On obtient donc l'extrait hydro-alcoolique brut. La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu. 0.2 ml de l'extrait dilué 10 fois est ajouté à 1 ml de réactif de Folin–Ciocalteu dilué suivi par une incubation de 5 min, plus 0.8 ml de Na₂CO₃, le mélange est incubé pendant 90 min. L'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre helios (thermo spectronic) [9,10]. La teneur en polyphénols a été exprimée en microgrammes équivalents de l'acide gallique par milligrammes du poids d'extrait (µg EAG/mgE) à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique avec la formule :

$$Y=0.012X-0.01 \quad (R^2=0.998)$$

Y= densité optique (nm)

X= concentration équivalente de l'acide gallique en µg/ml

2.2.3. Isolement et purification des champignons

2.2.3.1. Isolement

L'isolement est réalisé à partir de deux échantillons ; feuilles du blé dur et fruit du citronnier présentant les symptômes caractéristiques de chaque maladie, la méthode est faite dans des conditions aseptiques.

2.2.3.2. Purification

La purification est réalisée par transfert des colonies développées sur des boîtes contenant le milieu de culture PDA (Potato dextrose agar), chaque colonie récupérée dans une boîte. L'incubation est réalisée à une température 30 °C, pendant 4 -6 jours. Cette méthode est répétée jusqu'à l'obtention des colonies pures [11].

2.2.3.3. Identification

Pour l'observation macroscopique des moisissures du champignon isolats sur milieu PDA, il est nécessaire de les caractériser par couleur et aspect des colonies (croissance et revers de la

boîte, texture de la surface des colonies). L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait généralement à l'objectif x40 qui est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants [12].

2.2.4. Activité antifongique

Sur une boîteensemencée par la souche à tester et qui a été incubée à 37°C pendant 5 jours. 10 ml de l'eau distillée contenant de Tween 20 sont mis sur la surface de la boîte. La colonie fongique est rincée soigneusement en faisant des mouvements circulaires de la boîte de Pétri afin d'obtenir le nombre maximal de spores. L'activité antifongique a été déterminée par la méthode de diffusion par disque [13].

2.3. Analyse statistique

Les données recueillies pour les différents paramètres mesurés ont été traitées par une analyse de la variance à deux critères de classification en utilisant le logiciel SAS version 9.1.3., (2011).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Etude des moyennes des variables mesurées

Les moyennes des caractères mesurés exprimant l'effet spécifique au génotype, au stress et interaction sont données au tableau 2. L'analyse de la variance des caractères mesurés indique un effet génotype très hautement significatif pour la proline, les sucres et les polyphénols, un effet stress très hautement significatif pour la proline et les polyphénols et n'est pas significatif pour les sucres. L'analyse montre aussi un effet interaction très hautement significatif pour la proline et les polyphénols et n'est pas significatif pour les sucres (Tableau2)

Tableau 2. Carrés moyens de l'analyse de la variance des variables mesurées

Source de variation	ddl	Prol	Suc	Polyphé
Génotype	2	184,94***	4,567***	821,4***
Stress	1	817,7***	0,530 ns	307,1***
Génotype x Stress	2	219,97***	0,470 ns	559,8***
Erreur	12	7.90	0.281	20.4

ns, *** = effet non significatif et très hautement significatif respectivement à 5% de probabilité. Prol = proline, µg/ml; Suc = Sucres totaux, µg/ml, poly=polyphénols, µg/ml

Un effet génotype significatif indique des différences de comportement variétal. Un effet stress thermique significatif indique des différences dues à la contrainte appliquée. La signification statistique de l'interaction suggère que la réponse des génotypes évalués diffère en fonction du degré de l'intensité du stress thermique appliqué et du caractère mesuré. Ces résultats suggèrent que, si l'expression du contenu des paramètres mesurés est dépendante de l'intensité du stress, elle est aussi influencée par le fond génétique évalué. Ces résultats indiquent aussi qu'en moyenne sur l'ensemble des génotypes évalués, les contenus en proline et en sucres augmentent significativement sous stress. Ceci suggère que le choc thermique induit une accumulation accrue de ces deux osmolytes. Cette augmentation est de 49.17% et 19.96% pour la proline et les sucres respectivement et une réduction pour les polyphénols soit de -6.53 % (Figure 1)

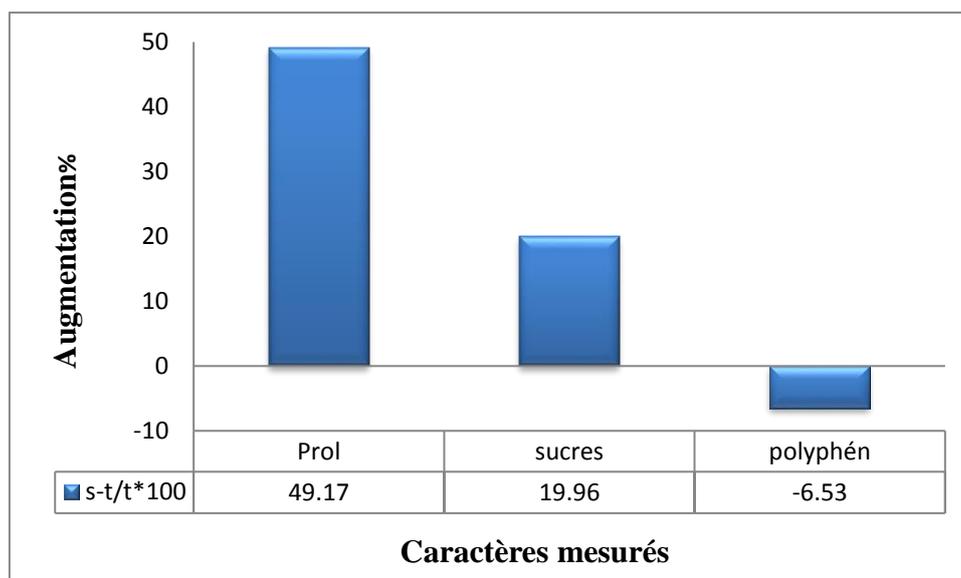


Fig.1. Effet relatif du stress thermique sur les caractères mesurés

L'étude indique que le contenu en proline et en polyphénols varie, en fonction de l'intensité du choc thermique et du fond génétique expérimenté.

La concentration de la proline varie d'une variété à une autre, elle augmente chez les génotypes étudiés après l'application du stress. Cette augmentation est bien marquée chez la variété stressée Ciccio avec une valeur maximale de 53,03 ($\mu\text{g/ml}$) par rapport aux témoins avec une valeur de 26,66 ($\mu\text{g/ml}$). La variété stressée Vitron présentent une valeur minimale de 26,05 ($\mu\text{g/ml}$) par rapport au témoin. Bousselam accumule la proline avec une valeur de 30,24 ($\mu\text{g/ml}$)

chez la variété stressée par rapport au témoin avec une valeur de 29,54 ($\mu\text{g}/\text{ml}$). La concentration des sucres varie d'une variété à une autre ; elle augmente chez les géotypes stressés. Cette augmentation est bien marquée chez la variété stressée Bousselame et Vitron avec des valeurs de 7,17 et 5,42 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) respectivement par rapport aux témoins (Tableau 3). La concentration des polyphénols varie d'une variété à une autre ; elle augmente chez les géotypes stressés par rapport aux témoins (Tableau 3). D'après ces résultats on constate que la variété boussellam est plus tolérante au stress appliqué que d'autres variétés. Ciccio et Vitron sont classés comme moyennement tolérants.

L'ajustement osmotique est une forme spécifique d'accumulation des solutés qui maintiennent la turgescence et l'hydratation lors du stress avec des effets positifs sur la croissance et le développement de la plante [14]. Les solutés les plus importants qui s'accumulent chez les plantes soumises aux stress sont les hydrates de carbone solubles et les acides aminés tels que la proline et la glycine- bêtaïne [15]. Cette accumulation, chez le blé, a été associée à l'adaptation à des conditions de stress [6].

Tableau 3. Effet d'interaction stress thermique x géotype sur les paramètres mesurés chez les trois géotypes de blé dur testés Bousselam, Vitron et Ciccio

	géotype	Prol $\mu\text{g}/\text{ml}$	Suc $\mu\text{g}/\text{ml}$	Poly $\mu\text{g}/\text{ml}$
T	Bouss	29,54	5,27	45,11
T	Vitron	39,41	4,96	31,19
T	Ciccio	26,66	6,51	52,48
S	Bouss	30,24	7,17	69,78
S	Vitron	26,05	5,42	35,09
S	Ciccio	53,03	6,08	56,5

Proline (Prol, $\mu\text{g}/\text{ml}$), du contenu en sucre (Suc, $\mu\text{g}/\text{ml}$), de la teneur en polyphénols (poly, $\mu\text{g}/\text{ml}$), T (témoin), S (stressé),

3.2. Etude de l'activité antifongique des extraits

3.2.1. Isolement et purifications de l'agent pathogène

L'isolement est réalisé à partir de deux échantillons ; feuilles du blé dur et fruit du citronnier. Il a abouti à divers aspects, textures et couleurs de colonies. En effet, deux souches de moisissures

ont été purifiées. L'identification est réalisée, on se basant sur l'étude des caractères macroscopiques (couleur, aspect de colonie et le revers des boîtes), (Figure 2) et microscopiques (forme de thalle et des spores), (Figure 3) [16].

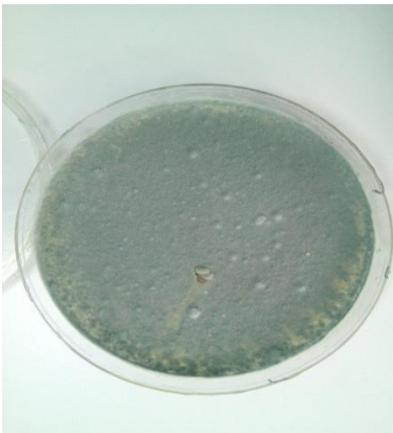
Organe Infectées	Observation macroscopique	Aspect macroscopique
		<p>-une croissance apicale très rapide de caractère envahissant, et qui peut monter jusqu'au couvercle de la boîte de Pétri,</p> <p>-Le thalle a une texture laineuse et une couleur blanche</p>
		<p>-Elles apparaissent sous forme de colonies poudreuses de couleurs bleu-vert.</p>

Fig .2. Identification macroscopique des souches fongiques purifiées

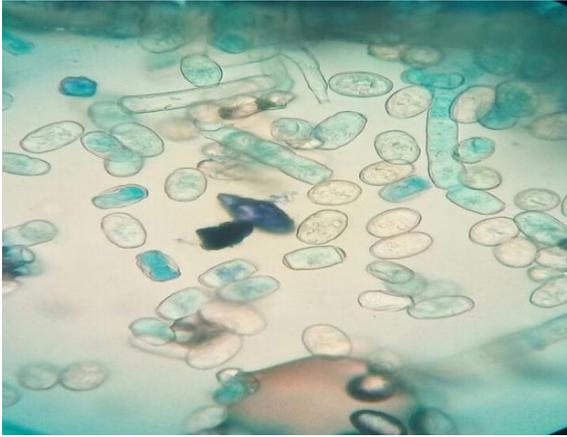
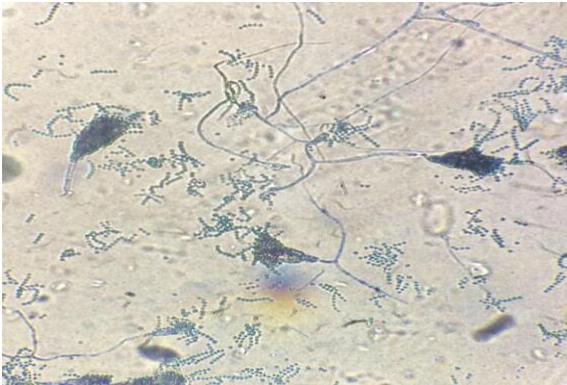
Observation microscopique	Caractères
	<p>-Ce sont des filaments mycéliens en général formés d'une seule cellule issue de la division d'une cellule de la paroi du périthèce.</p> <p>-La structure apparaît simple il s'agit de conidiophores hérissés terminés par des conidies ellipsoïdales (oïdium veut dire petit œuf)</p>
	<p>-Le mycélium est septé conidiophore et porte des phialides, Les conidies sont ellipsoïdales à sub- globuleuses, lisses, et forment de longues chaînes irrégulières</p>

Fig.3. Identification microscopique (x40) des souches fongiques purifiées

A partir des résultats macro et microscopique on conclut que les deux souches isolées sont :

-L'*oïdium* (*Blumeria graminis*)

- *Penicillium* sp

3.2.2. Etude des moyennes de la zone d'inhibition

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Elle se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait étudié. L'analyse de la variance des caractères mesurés indique un effet génotype très hautement significatif pour la zone d'inhibition de la proline et des sucres pour le pénicillium, et un effet significatif pour la zone d'inhibition de la proline et des sucres pour l'oïdium, un effet traitement hautement significatif pour la zone d'inhibition de proline pour l'oïdium et pénicillium, et un effet significatif pour la zone d'inhibition des sucres pour l'oïdium et un effet très hautement significatif pour la zone d'inhibition des sucres pour le pénicillium. L'analyse

montre aussi un effet interaction significatif pour la proline et les sucres pour l'oïdium et n'est pas significatif pour la proline et les sucres pour le pénicillium (Tableau 4).

Tableau 4. Carrés moyens de l'analyse de la variance de la zone d'inhibition

<i>Source de variation</i>	<i>ddl</i>	<i>ZI/Pro1</i>	<i>ZI/Su1</i>	<i>ZI/Pro2</i>	<i>ZI/Su2</i>	<i>ZIPolyphé</i>
Effet Génotype (G)	2	1.72*	0.72*	6.16***	1005.5***	/.
Effet traitement (T)	1	22.22**	1.39*	4.5**	14.22***	/
Effet interaction (GxT)	2	2.72*	4.06*	1.16 ns	2.39 ns	/
Erreur	12	3.44	4.22	0.611	1.22	/

ZI/Pro1=zone d'inhibition de la proline pour l'oïdium, *ZI/Su1*=zone d'inhibition des sucres pour l'oïdium. *ZI/Pro2*=zone d'inhibition de la proline pour le *pénicillium*, *ZI/sucr2*=zone d'inhibition de la proline pour le *pénicillium*, *ZIPolyphé*= zone d'inhibition des polyphénols

3.2.2.1. Etude des moyennes de la zone d'inhibition pour l'oïdium

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'un champignon à un autre et d'un extrait à un autre, avec une absence totale d'une activité antifongique pour l'extrait phénolique. En effet, les zones d'inhibitions maximales sont marquées dans les boîtes de Pétri traitées par les sucres en comparaison avec les boîtes traitées par la proline, les polyphénols et l'antifongique que ce soit inoculés par l'oïdium ou par le *pénicillium* dans le cas que l'extrait issue des génotypes stressés (Tableaux 5 et 6). Les moyennes de la zone d'inhibition de la proline pour l'oïdium oscillent entre (6,33±0,57 mm) valeur minimale et (10,66±1,52 mm) valeur maximale. Pour les sucres les moyennes varient de (26,33±2,52 mm) à (28,33±2 mm) une valeur maximal enregistrée chez l'extrait issue des génotypes stressés, ce qui traduit une forte activité antifongique des sucres sur l'oïdium par rapport à la proline (Tableau 5).

Tableau 5. Zone d'inhibition pour les trois extraits : proline, sucre et polyphénols testés pour leur activité antifongique (*l'oïdium*)

Traitement	Génotype	ZI/Prol (mm)	ZI/sucre(mm)	ZI/polyphénols
T	Bousselam	8,5±2,08	26,5±2,52	0
T	Vitron	8,33±2,08	26,33±2,52	0
T	Ciccio	6,33±0,57	27±2	0
S	Bousselam	10,66±1,52	26,33±2,52	0
S	Vitron	8±1	28,33±2	0
S	Ciccio	10,33±1,52	28,33±1,52	0

S=stressé / T=témoin

3.2.2.2. Etude des moyennes de la zone d'inhibition pour le *Penicillium*

Les moyennes de la zone d'inhibition de la proline pour le *penicillium* oscillent entre (6±0 mm) valeur minimale et (8,33±1,53 mm) valeur maximale. Pour les sucres les moyennes varient de (6±0 mm) à (29±1 mm) une valeur maximal enregistrée chez l'extrait issue des génotypes stressés ce qui traduit aussi une forte activité antifongique des sucres sur le *penicillium* par rapport à la proline (Tableau 6). Les résultats indiquent que les sucres montrent une forte activité antifongique sur les deux champignons par rapport à la proline.

Tableau 6. Zone d'inhibition pour les trois extraits : proline, sucres et polyphénols testés pour leur activité antifongique (*Penicillium*)

Traitement	Génotype	ZI/Prol (mm)	ZI/sucre(mm)	ZI/polyphénols
T	Bousselam	6±0	6±0	0
T	Vitron	6±0	6±0	0
T	Ciccio	7,66±0,58	26,66±2,08	0
S	Bousselam	6,33±0,58	6,66±1,15	0
S	Vitron	7,33±0,58	6±0,57	0
S	Ciccio	8,33±1,53	29±1	0

S=stressé / T=témoin

3.2.2.3. Test t pour données appariées de la zone d'inhibition pour la proline ZI/Proline (mm)

D'après les résultats démontrés dans la boîte à moustaches ainsi que l'intervalle de confiance représentés dans la figure ci-dessous, on constate qu'il y a des différences significatives entre les valeurs de la zone d'inhibition des deux champignons traités par la proline ou l'hypothèse H_0 (pas de différence) est rejetée.

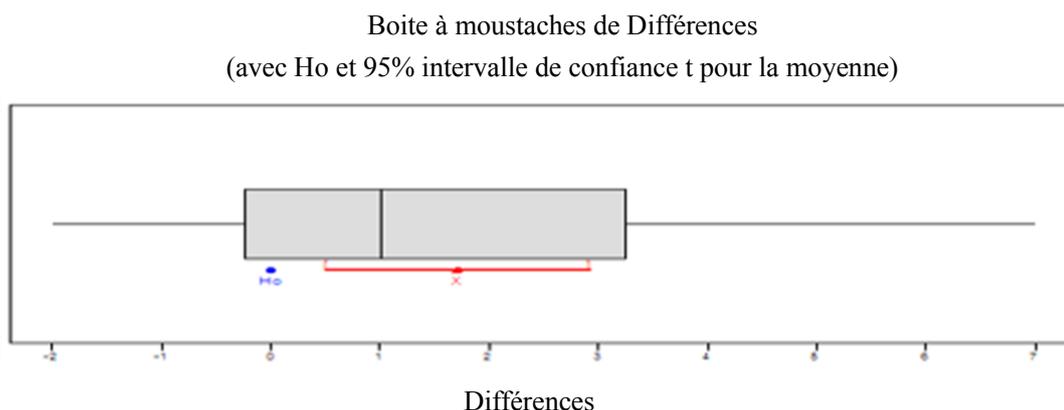


Fig. 4. Boîte à moustaches de différences de zone d'inhibition pour la proline entre deux champignons (*L'œidium* et *Penicillium*)

3.2.2.4. Test t pour données appariées de la zone d'inhibition des sucres ZI/Sucres (mm)

La boîte à moustaches présenté ci-dessous montre qu'il y a des différences significatives entre les valeurs de la zone d'inhibition des deux champignons traités par les sucres ou l'hypothèse H_0 (pas de différence) est rejetée (figure 5)

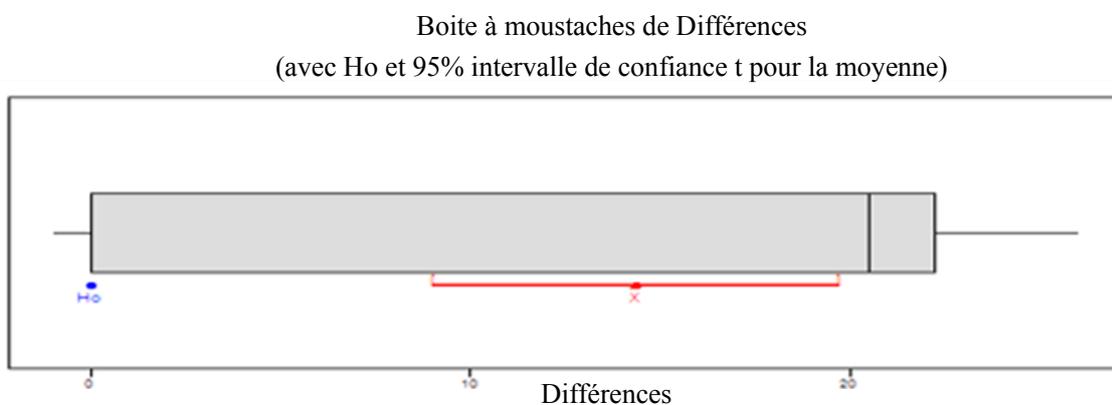


Fig.5. Boîte à moustaches de différences de zone d'inhibition pour les sucres entre deux champignons (*L'œidium* et *Penicillium*)

Les plantes répondent aux agressions biotiques par la synthèse d'une variété de molécules organiques ayant la capacité d'agir de façon directe (biochimique) ou indirecte (structurale) sur l'envahisseur microbien. Le renforcement de la barrière mécanique par épaissement de la paroi de la cellule [17] incrustation de molécules polysaccharidiques, comme la callose, de métabolites issus du sentier des phénylpropanoïdes, comme la lignine et les composés phénoliques, et des protéines et glycoprotéines structurales, comme les glycoprotéines riches en hydroxyproline (HRGPs) [18].

Nos résultats corroborent avec ceux de [19,20] qui montrent par l'expérimentation que la pulvérisation foliaire d'infra-doses de l'ordre de la ppm des sucres simples induit une réaction de la plante qui se traduit par une résistance de celle-ci face à plusieurs bio-agresseurs étudiés et l'utilisation des sucres peut permettre d'abaisser les taux de populations des bio-agresseurs à des seuils plus faciles à combattre ou au-dessous des seuils économiques, et ainsi participer à augmenter l'efficacité des méthodes de protection intégrée ou d'agriculture biologique. Le mannose et le glucose exsudés par des sensilles sensorielles du nématode *Meloidogyne incognita* joueraient un rôle dans leur perception et orientation [19]. Le fructose agirait sur la germination du champignon par des voies de signalisation [21]. La variabilité dans l'activité antimicrobienne de plantes peut être due à la différence dans la teneur en polyphénols de leurs extraits méthanoliques [22]. La taille de la zone d'inhibition peut être affectée par la solubilité et l'évaporation de l'extrait [23]. Cela suggère qu'il y a une différence dans l'activité antifongique pour les trois extraits utilisés.

4. CONCLUSION

L'objectif de notre étude est d'impliquer les mécanismes de tolérance au stress abiotique par la synthèse des métabolites via l'ajustement osmotique dans la tolérance aux stress biotique provoqué par des champignons causant des dégâts pour le blé dur. L'analyse de la variance des caractères mesurés indique que la réponse des génotypes évalués diffère en fonction du degré du stress thermique subi. D'après ces résultats on constate que la variété boussellam est plus tolérante au stress appliqué que d'autres variétés par l'accumulation des osmolytes. Ciccio et Vitron sont classés comme moyennement tolérants. L'activité antifongique a été déterminée sur deux champignons le pénicillium et l'oïdium selon la méthode de diffusion par disque. Elle se

traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque imprégné d'extrait étudié. Les résultats montrent qu'il y a des différences significatives entre les valeurs de la zone d'inhibition des deux champignons traités par la proline ou par les sucres. Les zones d'inhibitions maximales sont marquées dans les boîtes de Pétri inoculés par l'oïdium ou par le pénicillium et traités par les sucres issus des génotypes stressés avec des moyennes de $(28,33 \pm 2 \text{ mm})$, $(29 \pm 1 \text{ mm})$ respectivement. Les sucres sont avérés comme un agent antifongique fortement efficace contre le pénicillium et l'oïdium. La différence dans l'activité antifongique pour les trois extraits utilisés nous permet de valoriser et de prendre en considération les substances accumulés au cours d'un stress abiotique dans la tolérance au stress biotique de nature fongique et pourquoi pas de nature bactérienne et viral.

5. ACKNOWLEDGEMENTS

Un grand remerciement est destiné à Mr BENGHANEM Monsaf enseignant à l'université de Abbes Laghrour de Khenchela pour son aide surtout en ce qui concerne l'isolement et l'identification des champignons.

6. RÉFÉRENCES

- [1] Levitt J. Responses of plants to environment stress. Volume 1: Chilling Freezing and high temperature stresses. Academic press., 1980, p 510.
- [2] Baenziger S, Tussiwand R, Schlaepfer E, Mazzucchelli L, Heikenwalder M, Kurrer MO, Aguzzi, A. Dissemination and sustained HIV infection in CD34+ cord blood cell-transplanted Rag2 mice. Proceedings of the national academy of science., 2006, 13,43,15951-15956
- [3] Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Ann. Bot., 1996, 78: 389-398.
- [4] Rosa M., Prado C, Podazza G, Hilal M, Interdonato R. Soluble sugars - Metabolism, sensing and abiotic stress. Plant signaling and behaviour., 2009, 4, 5, 388-393.
- [5] Fiala V, Boutin JP, Barry P & Derridj S. Les métabolites de surface foliaire (phylloplan): présence et rôle dans les relations plante-insecte., 1993, Acta Botanica Gallica, 140:2, 207-216, DOI: 10.1080/12538078.1993.10515583

- [6] Hamli S, Labhilili M, Kadi K, Kabthan A E H, Tagouti M, Kamar M, Kanzeri R, Alyadini M and Bouzerzour H. Heat shock effects on fluorescence, membrane stability, chlorophyll content and metabolites accumulation in durum wheat (*Triticum turgidum L. var. durum*) seedlings and relationships with stress tolerance indices., 2015, *Advances Environ Biol.*, 9: 116-125.
- [7] Bates LS, Waldrem RP, Teare ID. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil.*, 1973, 39: 205-208.
- [8] Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PT and Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry.*, 1956, 28(3), 35-356
- [9] Sultana B, Anwar F, Rasi M, Chatha SAS. Antioxidant potential of extracts from different agro wastes: Stabilization of corn oil. *Grasas Y Acetias.*, 2008, 59:205-217.
- [10] Singleton VL, Ortorfer R and Lamnela RM. Analyse of total phenols and other oxidation substrate and antioxydants by mean of Folin Ciocalteu reagent. *Academic press.*, 1999, 5:152-178
- [11] Button B, Breton A, Fèvre M, Guy P, Larpent J P, Veau P. Moisissures utiles et nuisible. Importance industrielle. 2^{ème} éd. Revue et complete. Paris, Milan, Barcelonne : Masson., 1990, 512
- [12] Chabasse, D. Les phaeohyphomycetes agents de phaeohyphomycoses: Des champignons émergents. *Journal de mycologie medicinale.*, 2002, 12 (2), 65-85
- [13] Nccls. National committee for clinical Laboratory Sandars. Performance standards for antimicrobial disks susceptibility test., 1997. Sixth ed. Approved standard M2-A6, Wayne, PA.
- [14] Santarmaria JM., MM. Ludlow, S. Fukai. Contribution of osmotic adjustment to grain yield in *Sorghum bicolor L.* under water-limited conditions: 1. Water stress before anthesis., 1990, *Aust. J. Agric. Res.*, 41 : 5 1-65.
- [15] Cheeseman LM. Mechanisms of sdinity tolerance in plants, *Plant Physiol.*, 1988, 87: 547-550.
- [16] Barnett, H.L. and Hunter, B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3rd Edition, Burgess Publishing Co., Minneapolis., 1972, 241 p.
- [17] Claude M, Nicolas B. La stimulation des défenses naturelles des plantes : Un vaccin vegetal.

Perspectives Agricoles., 2009, PA n° 355 - p 36 37.

[18] Sylvie D, Ingrid A, Nicholas, Birch E, Elad Y N. Lombarkia P, Couzi P, Pierre P Auger J, Les sucres solubles, une opportunité pour l'agriculture durable ? Des expérimentations menées sur maïs, tomate, pomme de terre et pommier. PHYTOMA - La Defense des végétaux., 2011, N° 640 janvier

[19] Zuckerman B.M. Nematode chemotaxis and possible mechanisms of host/prey recognition. Ann. Rev. of Phytopathol., 1984, 22 : 95-113

[20] Perri R N. Chemoreception in parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology., 1996, 34 : 181-199.

[21] Doehlemann G, Molitor F, Hahn M. Molecular and functional characterization of fructose specific transporter from the gray mold fungus *Botrytis cinerea*. Fungal genetics and biology., 2005, 42, 7, 601-610.

[22] Mahmoudi S, khali M, Mahmoudi N. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut *Cynara scolymus* L. Nature & Technologie., 2013, 9: 35-40

[23] Hernandez M A, Olmos E, Corpas F J, Sevilla F and Del Rio L A. Salt induced oxidative stress in chloroplast of pea plants. Plant Science., 1995, 15(2), 151-167

How to cite this article:

Hamli S, Kadi K, Bekhouche I, Harnane I, Addad D, Abdelmalek A, Harrat N. Involvement of abiotic stress tolerance mechanisms in biotic stress tolerance in durum wheat. J. Fundam. Appl. Sci., 2020, 12(2), 738-754.