

EFFECT OF THE HYDRIC STRESS ON THE SYNTHESIS OF MITOCHONDRIAL AND CHLOROPLAST PROTEINS FOR TWO VARIETIES OF DURUM WHEAT

EFFET DU STRESS HYDRIQUE SUR LA SYNTHÈSE DES PROTEINES MITOCHONDRIALES ET CHLOROPLASTIQUES DE DEUX VARIÉTÉS DE BLE DUR

W. Zerrad¹, B.S. Maataoui², T. Fechtali¹, S. Hilali²,
S. El Antri¹, S. Lazar^{1*}, A Hmyene¹

¹*Laboratoire de Biochimie, Environnement & Agroalimentaire, FST,
Université Hassan II Mohammeda Casablanca,
BP 146, 20800 Mohammeda, Maroc*

²*Laboratoire des Sciences de l'Environnement et du Développement, FST,
Université Hassan 1er, BP 577, 26000 Settlat, Maroc*

*Corresponding author: lazar_said@yahoo.fr

Received: 17/04/2009

Accepted after revision: 08/09/2009

Abstract: The effect of water stress on the synthesis of mitochondrial and chloroplast proteins of two varieties of durum wheat *Karim* and *Tomouh* were evaluated. The conditions of water stress resulted in both varieties studied a reduction of water potential with an increase in the accumulation of total protein in both chloroplasts and in mitochondria.

Keywords: *durum wheat, water stress, mitochondrial and chloroplast proteins*

INTRODUCTION

Les stress environnementaux, notamment le stress hydrique, limitant sérieusement la croissance des plantes ainsi que la productivité végétale [1].

Au Maroc, le déficit hydrique constitue un important facteur limitant pour la production des cultures céréalières puisque 60% de la superficie réservée aux céréales se situe dans les zones arides et semi-arides [2] qui se caractérisent par une faiblesse et une forte irrégularité des précipitations et de fortes températures sur une grande partie de l'année [3].

Plusieurs études ont montré que, lors d'un déficit hydrique, les plantes adoptent des stratégies d'adaptation qui diffèrent d'une espèce à une autre et qui font intervenir une large combinaison de facteurs morphologiques, physiologiques et biochimiques [4].

Après la chute du potentiel hydrique causée par le stress hydrique [5, 6], les plantes font intervenir un certain nombre de facteurs morphologiques et physiologiques. En effet, pour maintenir la turgescence et le volume cytosolique aussi élevé que possible, les plantes réduisent la transpiration par la fermeture des stomates et la réduction de la surface foliaire [7] et par conséquent, l'activité photosynthétique diminue, dans un premier temps, suite à la fermeture des stomates [7], puis du fait de l'altération de l'appareil photosynthétique [8]. Cette diminution de la photosynthèse est généralement accompagnée par une réduction très importante de la respiration [9, 10] qui est due à la réduction de la biomasse totale suite au stress hydrique [9].

La présente étude vise à évaluer l'effet du stress hydrique sur la synthèse des protéines mitochondriales et chloroplastiques des deux variétés de blé dur *Karim* et *Tomouh*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal

Le matériel végétal est formé de deux variétés de blé dur *Karim* et *Tomouh* fournies par l'Institut National des Recherches Agronomiques de Settat.

Les graines ont été imbibées pendant 4 heures dans l'eau de robinet puis mises en culture à température ambiante pendant 7 jours à l'obscurité pour l'extraction des mitochondries et à la lumière du jour pour l'extraction des chloroplastes. Les graines ont été arrosées une fois par jour.

Mise en stress hydrique

Après 7 jours de germination, les germes de blé, des deux variétés, ont subi un stress hydrique de 3, 5, 7 et 9 jours par arrêt d'arrosage. Une partie de chaque variété a été arrosée normalement et a été considérée comme témoin.

Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau a été déterminée en plaçant des échantillons de poids déterminé dans une étuve portée à 75 °C.

Les échantillons ont été pesés, à des intervalles de temps réguliers, jusqu'à obtention de poids constants.

Extraction des chloroplastes

L'extraction des chloroplastes a été faite par la méthode de Bonner [11], à partir de coléoptiles vertes des deux variétés. Les coléoptiles sont lavées, puis broyées à l'aide d'un broyeur vortex dans le tampon Tris-HCl 50 mM ($pH = 7,5$), contenant du mannitol 0,4 M et de l'EDTA 1 mM. Une solution du chlorhydrate de cystéine (4 mM) est ajoutée au milieu de broyage au moment de l'emploi. Pendant le broyage le pH est maintenu constant par addition de quelques gouttes de Tris-HCl 2M. Le broyat est passé entre deux épaisseurs de tissu non tissé et d'une épaisseur de gaz chirurgicale. Les broyats ainsi obtenus sont centrifugés à 1500 g à 4 °C pendant 5 min. Les surnageants obtenus sont soumis à une centrifugation de 3000 g à 4 °C pendant 10 min et les culots de chloroplastes récupérés sont mis en suspension dans du Tris-HCl 50 mM ($pH = 7,5$) contenant de l'EDTA 1 mM, du BSA 0,1% (p/v) et de l'Azide de sodium 0,0065% (p/v).

Extraction des mitochondries

L'extraction des mitochondries a été faite par la méthode de Bonner [11], à partir de coléoptiles étiolées des deux variétés, en utilisant les mêmes milieux d'extraction et de lavage que ceux utilisés pour l'extraction des chloroplastes. Les coléoptiles sont lavées, puis broyées à l'aide d'un broyeur vortex dans le milieu d'extraction. Après filtration, les broyats sont centrifugés à 4500 g à 4 °C pendant 15 min. Les surnageants obtenus sont soumis à une centrifugation de 10000 g à 4 °C pendant 15 min et les culots de mitochondries récupérés sont mis en suspension dans le milieu de lavage puis centrifugés à 10000 g pendant 20 min pour obtenir une fraction mitochondriale brute lavée.

Dosage des protéines mitochondriales et chloroplastiques

Le dosage des protéines a été effectué par la méthode de Folin [12]. Une gamme étalon est faite à l'aide d'une solution de sérum albumine de bœuf (SAB) pour des concentrations allant de 0 à 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. La densité optique est lue à 750 nm au spectrophotomètre.

RÉSULTATS

La teneur en eau

Une comparaison entre l'évolution de la teneur en eau des deux variétés de blé dur (Figure 1) a montré que le stress hydrique entraîne une chute du pourcentage d'eau aussi bien pour la variété *Karim* que pour la variété *Tomouh*. Cette chute devient de plus en plus nette au fur et à mesure que le niveau de stress s'accroît.

Ce résultat est en conformité avec les résultats obtenus par d'autres chercheurs [5, 6, 13]. Ils ont aussi montré que l'effet dépressif de la carence en eau sur l'état hydrique de la plante peut être irréversible si la période de stress est prolongée.

En absence de déficit hydrique, la teneur en eau des coléoptiles reste presque stable chez les deux variétés.

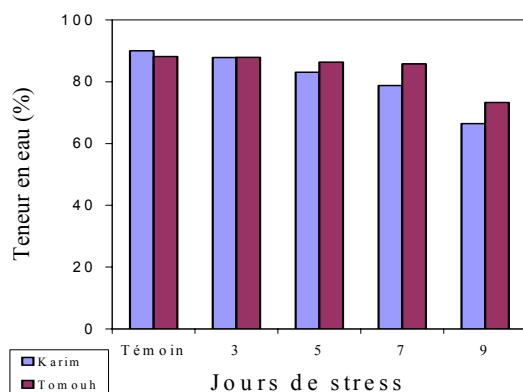


Figure 1. Comparaison entre l'évolution de la teneur en eau des coléoptiles des deux variétés durant les 9 jours de stress hydrique

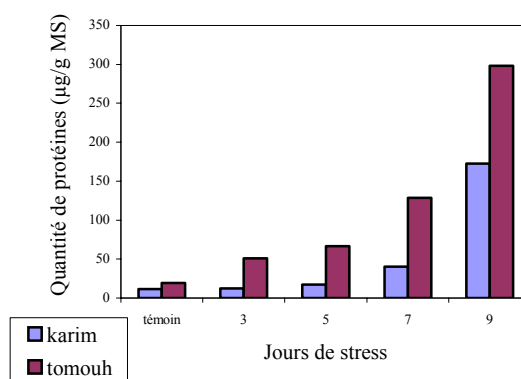


Figure 2. Comparaison entre l'évolution de la quantité de protéines mitochondriales des deux variétés durant les 9 jours de stress hydrique

Dosage des protéines mitochondriales

Le dosage des protéines mitochondriales des deux variétés a montré (Figure 2) qu'il y a une corrélation positive entre les jours de stress hydrique et le niveau de protéines aussi bien pour la variété *Karim* que pour la variété *Tomouh*. Cette synthèse protéique reste généralement plus remarquable au niveau de la variété *Tomouh* durant les neuf jours de stress.

Ce résultat est en accord avec ceux de certains chercheurs [14] qui ont trouvé, en travaillant sur le blé, que le déficit hydrique provoque une forte accumulation de certaines protéines mitochondriales tel que la (dlp) 63 KD (déhydrin-like protein).

En absence de stress hydrique, les quantités de protéines mitochondriales des deux variétés restent faibles et proches l'une de l'autre.

Dosage des protéines chloroplastiques

La comparaison entre l'évolution de la quantité de protéines chloroplastiques des deux variétés étudiées en fonction de la durée du déficit hydrique (Figure 3) a montré qu'il y a une hausse dans le niveau de protéines, cette augmentation devient de plus en plus nette au fur et à mesure que l'intensité du stress s'accroît et reste toujours beaucoup plus visible au niveau de la variété *Tomouh*.

Ces résultats sont en conformité avec ceux d'autres chercheurs [15] qui ont montré, en travaillant sur les plants de pomme de terre (*solanum tuberosum*), que le stress hydrique stimule fortement la synthèse de certaines protéines chloroplastiques dont la CDSP 32 et la CDSP 34 (Chloroplastic Drought-induced Stress Protein de 32 et 34 kDa).

En absence de stress hydrique, les quantités de protéines chloroplastiques des deux variétés restent faibles et proches l'une de l'autre.

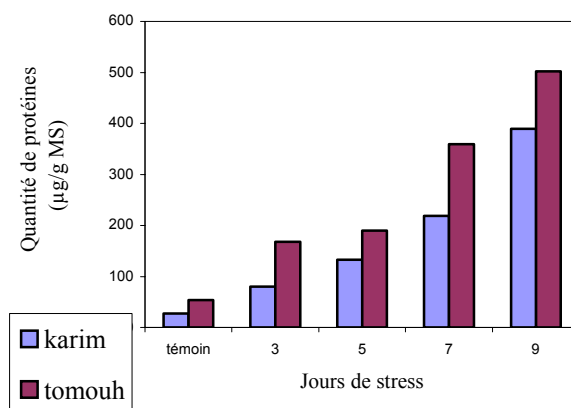


Figure 3. Comparaison entre l'évolution de la quantité de protéines chloroplastiques des deux variétés durant les 9 jours de stress hydrique

DISCUSSION

Les résultats obtenus, à partir de l'étude des protéines mitochondriales et chloroplastiques des deux variétés *Karim* et *Tomouh* soumises à des conditions de déficit hydrique, par arrêt d'arrosage durant neuf jours, ont montré que la réponse à cet aléa dépend de deux facteurs : variété et durée du stress.

En générale, pour se conformer aux conditions de stress, les plantes édifient de nouveaux mécanismes d'adaptation et de nouvelles compositions cellulaires. Ainsi l'accumulation ou l'inhibition de la synthèse protéique demeure un marqueur moléculaire, très important, du stress hydrique

Au niveau cellulaire, cette étude a montré que le déficit hydrique a eu un effet très remarquable sur la synthèse des protéines aussi bien au niveau des mitochondries que des chloroplastes. Cet effet devient de plus en plus visible au fur et à mesure que la chute de la teneur en eau, provoquée par le stress hydrique, s'accroît. L'accumulation des protéines mitochondriales et chloroplastiques ne peut être due qu'à l'activation d'un ensemble de gènes permettant la synthèse des protéines associées aux stress. Ces résultats sont en conformité avec ceux de certains auteurs qui ont montré que le stress stimule la synthèse des protéines de choc thermiques (grp 75, HSP 60 et HSP 10) au niveau des mitochondries et des chloroplastes [16].

De nombreux auteurs ont mis en évidence l'influence du stress hydrique sur les chloroplastes et les mitochondries. Ils s'accordent à dire que l'effet dépressif du déficit hydrique sur la photosynthèse [8] ainsi que sur la respiration [9, 17] résulte d'une baisse de la conductance stomatique, d'une diminution de la surface foliaire et d'une altération de l'appareil photosynthétique. Le stress hydrique, en limitant l'activité photosynthétique et respiratoire, stimule également la production d'espèces réactive d'oxygène (superoxyde, oxygène singulet, peroxyde d'hydrogène, radical hydroxyle). Ces espèces qui sont toxiques et qui peuvent entraîner des dommages aux biomembranes et aux macromolécules tel que les protéines, les lipides, les acides nucléiques et autres molécules chloroplastiques et mitochondriales [15]. Pour maintenir

une croissance normale, les chloroplastes et les mitochondries activent la synthèse d'un certain nombre de protéines antioxydantes [1] qui permettent d'ébouer ces composés toxiques et de protéger les membranes ainsi que toutes les macromolécules. Mais du moment que la capacité de synthèse protéique au niveau des organites cellulaires reste limité, les changements dus au déficit hydrique exigent un apport de protéines à partir du cytosol là où elles sont synthétisées.

CONCLUSION

En conclusion, l'étude a montré que les organites cellulaires, chloroplastes et mitochondries, représentent des cibles importantes des dommages causés par le stress hydrique. Elle a également montré que ces organites peuvent jouer un rôle très important dans la réponse au stress soit par apport ou synthèse de protéines associées au stress.

RÉFÉRENCES

1. Wang, W.X., Brak, T., Vinocur, B., Shoseyov, O., Altman, A.: Abiotic resistance and chaprones: possible physiological role of SP1, stable of stabilising protein from *Populus*, in: *Plant Biotechnology 2000 and Beyond*, (Editor: Vasil, I.K.), Kluwer, Dordrecht, **2003**, 439-443;
2. El Mourid, M., Karrou, M., El Gharous, M.: *Al Awamia*, **1996**, 92, 69;
3. Boutfirass, M., Karrou, M., El Mourid, M. Irrigation supplémentaire et variétés de blé dans les zones semi-arides du Maroc, in: *Actes de la Conférence sur les Acquis et Perspectives de la Recherche Agronomique dans les Zones Arides et Semi-arides du Maroc*, (Editors : El Gharous, M. Karrou, M., El Mourid, M.), INRA-MIAC, 24-27 mai **1994**, Rabat, Maroc. 176-179;
4. Monneveux, P., Belhassen, E.: *Plant Growth Regulation*, **1996**, 20, 85;
5. El Mourid, M.: *PhD Dissertation*, Iowa State University Ames USA, **1988**, 229;
6. Casals, M.L. : *Thèse de Doctorat* de l'INRA Paris Grignon, **1996**, 93;
7. Karrou, M., El Mourid, M., Boulal, H., Boutfirass M.: *Ecophysiologie des céréales en zones semi-arides*, INRA, Maroc, **2001**;
8. Sarda, X., Vansuyt, G., Casse-Delbart, F., Lamaze, T.: Les signaux racinaires de la régulation stomatique, in: *Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne, Diversité génétique et amélioration variétale*, (Editors: Monneveux, P., Ben Salem, M.), 15-17 décembre **1992**, France, INRA, Les Colloques, 75-79;
9. Ibrahim, L., Proe, M. F., Cameron, A.D.: *Canadian Journal of Forest Research*, **1997**, 27, 1413;
10. Moutonnet P., Couchat, P.H.: *Physiologia Plantarum*, **1979**, 47, 39;
11. Bonner, W.D.: *Methods in Enzymology*, **1967**, X, 126;
12. Lowry, O.H., Rousbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J.: *J. Biol. Chem*, **1952**, 193, 256;
13. Samir, K. : *Thèse de Troisième Cycle* de la Faculté des Sciences de Meknes, **1993**, 185;
14. Borovskii, G.B., Stupnikova, I.V., Antipina, A.I., Vladimirova, S.V., Voinikov, V.K.: *Plant Biol.*, **2002**, 11, 5;
15. Broin, M., Cuiné, S., Eymery, F., Rey, P., *Plant Cell.*, **2002**, 14, 1417;
16. David, J.C., Grongnet, J.F.: *INRA Prod. Anim.*, **2001**, 14, 29;
17. Galmés, J., Medrano, H., Flexas, J.: *New Phytol.*, **2007**, 175, 792.