

Germination et croissance *in vitro* de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) des Beni-Snassen (Maroc oriental) à différentes concentrations en NaCl

Mohammed REDA TAZI ¹*, Abdelbasset BERRICHI ¹ & Benyounes HALOUI ¹

(Reçu le 03/07/2000 ; Révisé le 13/11/2000 ; Accepté le 25/01/2001)

إنبات ونمو أركان بني يزناسن شرق المغرب تحت تركيزات مختلفة للكلورور الصوديوم

ترتكز هذه الدراسة على مدى تأثير ملح كلورور الصوديوم على إنبات ونمو الأركان. لقد أجريت هذه التجربة في غرفة ذات حرارة وضوء معين، حيث أن عملية الإنبات وضعت في أنابيب اختبار تحتوي على وسط يتكون من الجيلوز و الماء وملح الكلورور الصوديوم بنسب مختلفة. تبين النتائج على عدم وجود اختلاف بين في عملية الإنبات ما بين الشاهد وتركيز الملح بنسبة 1g/1, 3g/1 و 5g/1. لاحظنا اختلاف بين الشاهد وتركيز الملح بنسبة 7g/1 و 9g/1. وحصلنا على نفس النتائج فيما يخص ظهور الساق. بالنسبة للنمو، فإن قياس طول الجذر الأساسي وعمود الساق يبين وجود تأثير الملح على عملية النمو وكذلك على كتلة الجذور والجزء العلوي للنباتات.

الكلمات المفتاحية : إنبات- نمو- المغرب - أركان- بني يزناسن- كلورور الصوديوم

Germination et croissance *in vitro* de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) des Beni-Snassen (Maroc oriental) à différentes concentrations en NaCl

Le présent travail se propose d'étudier l'effet du sel (chlorure de sodium) sur la germination et la croissance de l'arganier *in vitro* en testant différentes concentrations. L'étude a été réalisée dans une chambre de culture à température et à photopériode contrôlées. Les amandes sont mises à germer dans des tubes à essais sur un milieu gélosé (Agar + eau). Aucune différence significative de la germination des amandes entre le témoin et les essais en présence de 1g/l, 3 g/l et 5 g/l de NaCl. Au delà de 5 g/l, une différence significative a été révélée entre le témoin et les amandes à 7 g/l et 9 g/l de NaCl. L'émergence de l'axe de la tige suit la même évolution. En ce qui concerne la croissance, les mesures de la longueur de la racine principale et de l'axe de la tige montrent une différence significative pour les différentes concentrations. L'analyse statistique à 5% montre qu'il y a un effet du sel sur la production des biomasses aérienne et racinaire.

Mots clés : Germination - Croissance - NaCl - Arganier - Beni-Snassen - Maroc

In vitro germination and growth of *Argania spinosa* of Beni Snassen (Eastern Morocco) at various concentrations of NaCl

The present work intends to study, salt effect (chloride of sodium) on *in vitro* germination and growth of *Argania spinosa*. The test was conducted in a growth chamber where temperature and photoperiod were controlled. Almonds are put to germinate in tubes test with a gelose middle (Agar + water). Six concentrations of NaCl were tested. Results showed that there is not significant difference of germination between the witness and NaCl concentrations of 1 g/l, 3 g/l and 5 g/l. A significant difference has been found between the witness and the germination of almonds to concentrations of NaCl to 7 g/l and 9 g/l. The emergence of the stem axis follows the same evolution. With regard to the growth, measures of lengths of the main root and the stem axis showed a significant difference for the all concentrations tested. The statistical analysis to 5% showed that there is a significant effect of salt on the production of the aerial and root biomass.

Key words : Germination - Growth - NaCl - Arganier - Beni-snassen - Morocco

¹ UFR Sciences de l'environnement en milieux aride et semi aride, Laboratoire d'écologie végétale et d'aridoculture, Faculté des Sciences, B.P. 524, Université Mohamed 1^{er} Oujda

* Auteur correspondant ; e-mail : mohammedredatazi@hotmail.com

INTRODUCTION

La salinité et la sécheresse constituent des contraintes majeures limitant considérablement la production végétale sur 40% de la surface terrestre, notamment en région méditerranéenne (FAO, 1988). En zones arides et semi-arides, les sols salés sont largement répandus et limitent de ce fait une grande partie de la production des cultures herbacées et ligneuses.

La résistance et la tolérance à la présence de sel, tel que le chlorure de sodium, sont des qualités largement recherchées afin d'élargir la culture des végétaux dans ces régions. La régénération des forêts dépendra en grande partie de la germination des graines.

La tolérance des végétaux aux sels est un phénomène complexe qui implique des particularités morphologiques et développementales avec des mécanismes physiologiques et biochimiques variés. Identifier et comprendre ces mécanismes présentent un intérêt évident dans une optique d'aide à l'amélioration variétale. Ainsi, il existe de nombreuses indications chez les végétaux d'un potentiel génétique considérable de tolérance aux stress environnementaux (Tal, 1985), parmi lesquels l'aptitude à la germination et la croissance des plantes en milieux salés.

Les plantes poussant sur les sols salés doivent faire face à de fortes concentrations en ions toxiques comme Cl^- et Na^+ ainsi qu'à un faible potentiel hydrique du sol. En cas d'inhibition de la croissance en présence de sel, il est difficile de déterminer la part due à un excès d'ions de celle due à un déficit en eau (Greenway & Munus, 1980). Cependant, ces auteurs suggèrent que les espèces glycophytes sont généralement affectées par un excès d'ions dans les feuilles matures déjà étalées et par un déficit hydrique dans les jeunes feuilles en expansion. Marshner (1986) montre que l'inhibition de la croissance des espèces sensibles au sel est due principalement à la toxicité des ions même à faible concentration en sel. La toxicité des ions pourrait être une conséquence de leur mauvaise compartimentation cellulaire dans les vacuoles. Elle pourrait être également due à une incapacité à rejeter le sel en excès afin de maintenir l'équilibre osmotique.

De nombreuses études concernant le stress salin ont été menées sur les herbacées halophytes (Ahmad *et al.*, 1979 ; Aslam *et al.*, 1986), sur les

céréales sensibles ou tolérantes (Lessani & Marshner, 1978 ; Driouich & Rachidai, 1996 ; Aoud *et al.*, 1998 ; Malek-Maalej *et al.*, 1998 ; El Madidi *et al.*, 1998). Mais il existe beaucoup moins de travaux concernant les espèces ligneuses comme l'arganier (Bouzoubaa, 1995 ; Bouzoubaa & El Mourid, 1998 ; Hatimi *et al.*, 1998).

L'arganier "*Argania spinosa*" est une espèce endémique du Maroc. Elle possède une parfaite adaptation au sol et au climat aride. En outre, elle joue un rôle socio-économique important qui lui donne une place particulière parmi les autres essences forestières. C'est une espèce fruitière-forestière à usage multiple (M'hirit, 1987).

L'arganier des Beni-Snassen est situé dans l'étage de végétation thermoméditerranéen en ambiance semi-aride tempérée (Haloui, 1991). Cette arganeraie forme un matorral fortement dégradé par l'utilisation multiple de ses produits (bois, feuilles et fruits). Afin de reboiser l'arganeraie des Beni-Snassen et lutter contre sa dégradation massive dans la région orientale du Maroc, la connaissance de ses potentialités d'adaptation au stress salin et hydrique est primordiale. Le présent travail se propose d'étudier la germination et la croissance de l'arganier des Beni-Snassen *in vitro* sur un milieu gélosé à différentes concentrations en NaCl.

MATÉRIEL & MÉTHODES

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail provient de l'arganeraie de Jbel Tikermine des Beni-Snassen du Maroc oriental. Les fruits ont été récoltés au mois de juin au stade vert jaune, débarrassés de leur pulpe et de leur endocarpe ligneux afin d'obtenir des amandes intactes.

2. Milieu de culture

Le milieu de culture à base d'agar-agar (7 g/l) contient différentes concentrations en NaCl. La stérilisation a été réalisée dans un autoclave à 120°C durant deux heures pour la verrerie et 20 minutes pour les milieux de culture.

La désinfection consiste à faire tremper les amandes pendant 5 minutes dans de l'eau de javel (12°) diluée à 50% suivie de 3 rinçages à l'eau distillée stérile. Les amandes ont été ensuite ensemencées dans des tubes à essais contenant 35 ml de milieu. Toutes ces opérations se sont déroulées sous une hotte à flux laminaire.

Après inoculation, les graines ont été placées dans une chambre de culture à 25°C ± 2°C sous une intensité lumineuse de 2500 lux et une photopériode de 16 heures.

3. Dispositif expérimental

Six concentrations en NaCl (C₀ = 0 g/l ; C₁ = 1 g/l ; C₂ = 3 g/l ; C₃ = 5 g/l ; C₄ = 7 g/l ; C₅ = 9 g/l) ont été testées afin de déterminer le seuil qui entrave la germination. Pour l'ensemble de l'essai, 78 graines ont été semées à raison de 13 graines par concentration de milieu.

Le comptage a consisté à dénombrer les graines germées et celles qui ont développé l'axe de la tige.

Après dix semaines de culture, la longueur de la racine primaire et celle de la tige ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée.

La biomasse de la partie aérienne et racinaire a été déterminée, après séchage dans une étuve à 80°C, par des pesées jusqu'à poids constant. Cette détermination du poids a été réalisée à l'aide d'une balance de précision à 0,1 mg près.

4. Analyse statistique

Le test de comparaison des moyennes a été réalisé pour voir l'effet du sel sur la germination, la croissance et la biomasse. De même des corrélations ont été déterminées entre chacun de ces paramètres et les concentrations en NaCl du milieu de culture.

RÉSULTATS & DISCUSSION

L'étude de la germination des amandes d'arganier *in vitro* montre qu'il n'y a pas de différences significatives entre le témoin et les essais en présence de NaCl à 1 g/l, 3 g/l et 5 g/l (p>0.05). Une différence statistiquement significative a été notée entre le témoin et la germination des amandes en présence de NaCl à 7 et 9 g/l.

L'étude du pouvoir germinatif en fonction du temps montre un effet du NaCl sur le temps de latence et l'intervalle de germination au delà de 5 g/l (Figure 1). Ce temps de latence varie entre 5 jours pour C₀, C₁, C₂ et C₃ et de 9 jours pour C₅. L'intervalle de germination est compris entre 13 jours pour le témoin et 25 jours pour C₅ dont le pouvoir germinatif est de 69% (Figure 2). Dans une étude similaire réalisée dans le sud du Maroc, ce

pouvoir germinatif ne dépasse pas 50% pour une concentration en NaCl de 4,4 g/l (Bouzoubaa, 1995). D'ailleurs, Bani-Aameur & Michmerhuizen (1999) rapportent que les niveaux élevés de la salinité se traduisent par de faibles pourcentages de germination des graines d'arganier.

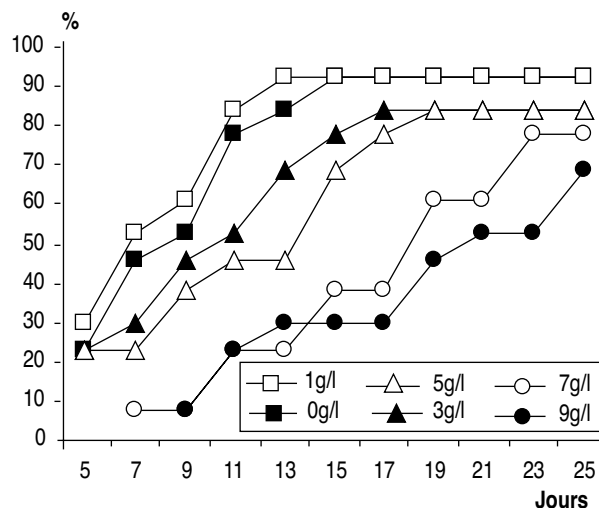


Figure 1. Taux de germination en fonction du temps à différentes concentrations en NaCl

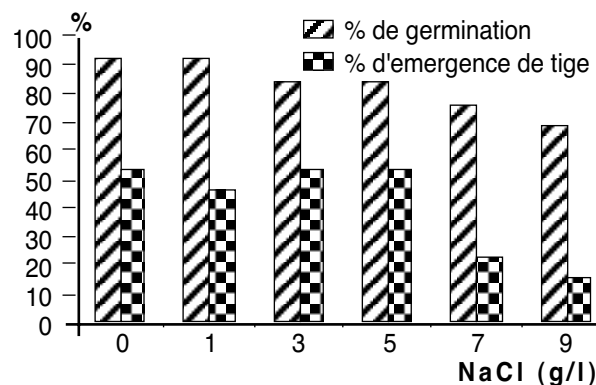


Figure 2. Pouvoir germinatif et le pourcentage d'émergence de la tige en fonction de différentes concentrations en NaCl

L'arganier au stade de la germination a une tolérance au sel située entre celle de l'olivier et celle du palmier (Bouzoubaa, 1995). Le taux de germination de l'orge est affecté à partir de 200 mM de NaCl ou à une dilution de 40 % avec de l'eau de mer (El Madidi *et al.*, 1998). De même, un effet de chlorure de sodium a été observé sur la germination *in situ* de l'orge à partir de 10 g/l (Sibi & Fakiri, 2000).

L'émergence de l'axe de la tige n'a pas été observée chez toutes les plantules ayant germé. L'analyse statistique a permis de déceler un effet du sel à partir de 5 g/l (p<0.05). Cette émergence évolue de

la même façon que le pouvoir germinatif, mais avec des taux plus faibles (Figure 2). La saillie de l'axe de la tige est en relation avec la concentration du milieu en NaCl. À 9 g/l, le pouvoir germinatif est de 69% alors que l'émergence de l'axe de la tige n'est que de 15%. Ces résultats confirment ceux qui sont obtenus en Tunisie par Malek-Maalej *et al.* (1998) sur la germination des céréales tunisiennes. Ces auteurs ont observé que les graines qui ont pu germer n'arrivent pas toutes à développer leurs coléoptiles. Selon Bani-Aameur & Michmerhuizen (1999), lorsque la concentration en sel augmente, les plantules d'arganier manifestent des symptômes de toxicité ionique sur l'appareil végétatif. D'après El Madidi *et al.* (1998), des taux d'émergence acceptables ont été observés sur l'orge pour des concentrations en NaCl comprises entre 100 et 150 mM, mais l'émergence a été revue à la baisse pour les concentrations de 200 mM de sel ou à la dilution de 40 % avec de l'eau de mer.

L'effet de la salinité sur la croissance de la racine et de la tige est très remarquable (Figures 3 et 4). En effet, l'étude statistique montre une différence significative pour les différentes concentrations ($p < 0.05$). La croissance racinaire diminue sous l'action du chlorure de sodium : quand la concentration du sel augmente, la longueur de la racine diminue. Il en est de même pour la croissance de la tige, exception faite pour la concentration de 1 g/l, où cette croissance caulinaire dépasse légèrement le témoin (Figure 4).

Ces résultats sont en concordance avec les travaux de Bani-Aameur & Michmerhuizen (1999). Pour l'orge, la longueur racinaire connaît des réductions importantes à partir de la dose de 150 mM de NaCl ou à la dilution de 30% avec de l'eau de mer (El Madidi *et al.*, 1998). Le sel a un effet négatif sur la

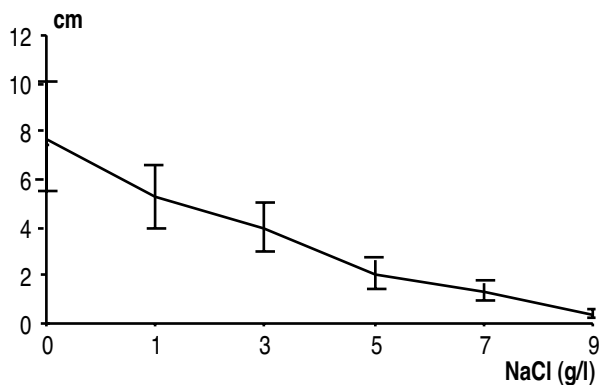


Figure 3. Effet du NaCl sur la longueur moyenne de la racine principale des jeunes plantules d'arganier

hauteur de l'*Acacia cyanophylla* et ce, à partir de 6% de NaCl (Hatimi *et al.*, 1998). La longueur de la tige et l'accroissement racinaire ne sont pas affectés en présence de 7,5 mM de NaCl pour le Chêne rouge et de 16 mM de NaCl pour l'Hêtre américain (Thornton *et al.*, 1988).

L'analyse statistique à 5% montre qu'il y a un effet du sel sur la production de la biomasse aérienne et racinaire de l'arganier (Figures 5 & 6).

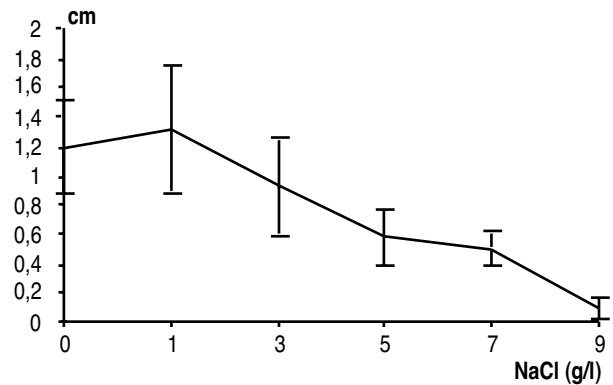


Figure 4. Effet du NaCl sur la longueur moyenne de la tige des jeunes plantules d'arganier

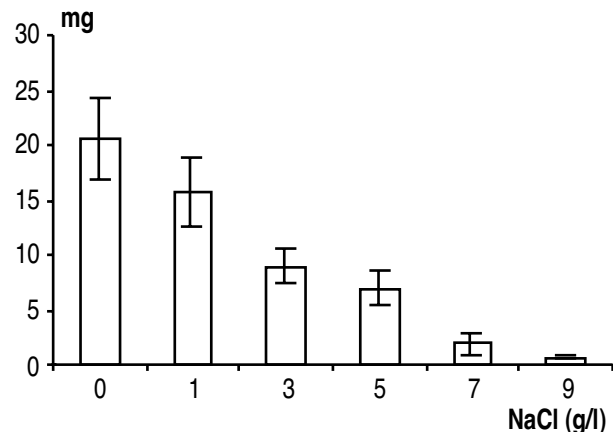


Figure 5. Effet du NaCl sur la biomasse moyenne racinaire des jeunes plantules d'arganier

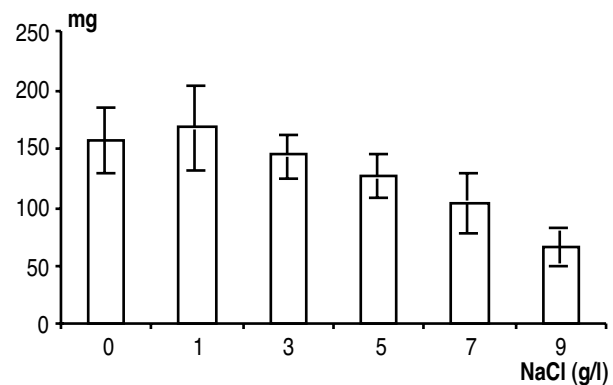


Figure 6. Effet du NaCl sur la biomasse moyenne aérienne des jeunes plantules d'arganier

Toutefois, une légère augmentation de la biomasse aérienne pour la concentration de 1 g/l est notée.

D'après ces résultats, une diminution des biomasses racinaire (57,6%) et aérienne (97,6%) par rapport au témoin et pour la concentration 9 g/l a été constatée. Il semble donc que la partie aérienne soit plus touchée par la salinité que la partie souterraine, ce qui est en accord avec le travail de Hatimi *et al.* (1998) sur l'*Acacia cyanophylla*. Ces mêmes auteurs obtiennent une diminution de la biomasse totale de la même plante allant jusqu'à 66%. Une chute de la croissance de 20% a été observée lorsque l'irrigation des céréales apporte 3 g/l de NaCl et de 30% quand l'apport de NaCl est de 6 g/l (Driouich & Rachidai, 1996). La réponse des plantes au stress salin varie suivant l'organe considéré. En effet, les poids de la matière fraîche et de la matière sèche des feuilles du Chêne rouge sont réduits à partir de 7,5 mM de NaCl alors que celui des racines ne l'est pas (Thornton *et al.*, 1988). Bouzoubaa & El Mourid (1998) ont remarqué qu'en présence de fortes concentrations en sel, il y a une baisse considérable des macroéléments (N, P et K) au niveau foliaire des jeunes plantes d'arganier et en même temps une augmentation significative du sodium au niveau racinaire. De même, Aouade *et al.* (1998) ont observé qu'une application de stress salin en milieu hydroponique à 60 mM et 120 mM de NaCl a entraîné une inhibition de la croissance exprimée par une diminution des poids frais et sec des feuilles et des racines de céréales traitées par rapport aux témoins. Selon les mêmes auteurs, la tolérance à la salinité paraît être liée à un potentiel de croissance élevé. Mais, pour l'arganier, la tolérance au sel se fait par le mécanisme d'exclusion physiologique de cet élément au niveau racinaire (Bouzoubaa & El Mourid, 1998).

La mesure de la conductivité électrique des différents milieux de culture au début et à la fin de l'essai montre une légère diminution de ce paramètre (Tableau 1) pour toutes les concentrations. Cette faible diminution de la salinité ne peut pas expliquer le pouvoir sélectif racinaire de l'arganier (Bouzoubaa & El Mourid, 1998). En effet, à ce stade la jeune plantule puise toujours ses réserves à partir des cotylédons.

Les corrélations entre, d'une part, les paramètres étudiés (germination, émergence de l'axe de la tige, croissance végétative et biomasse) et, d'autre part, les différentes concentrations en NaCl sont importantes ($0.97 < r < 0.98$; $P < 0.01$), exception faite pour le taux d'émergence où le coefficient de corrélation est : $r = 0.83$ $p < 0.05$ (Tableau 2).

Tableau 1. Conductivité électrique initiale et finale dans les différents milieux de culture

	Conductivité initiale (20°C)	Conductivité finale (20°C)
0 g/l	0,813 ms	0,72 ms
1 g/l	5,28 ms	4,2 ms
3 g/l	13,44 ms	12,46 ms
5 g/l	21,1 ms	19,2 ms
7 g/l	27,2 ms	25,2 ms
9 g/l	34,8 ms	32,6 ms

Tableau 2. Valeurs du coefficient de corrélation et de probabilité des différents paramètres étudiés

	r = Coefficient de corrélation	P = Probabilité
Taux de germination	0,98	P<0,01
Pourcentage d'émergence de la tige	0,83	P<0,05
Croissance racinaire	0,97	P<0,01
Croissance aérienne	0,98	P<0,01
Biomasse racinaire	0,97	P<0,01
Biomasse aérienne	0,97	P<0,01

L'évolution des dits paramètres est influencée par des taux croissants en NaCl du milieu. Ces résultats sont en accord avec les études sur l'arganier du sud (Bouzoubaa & El Mourid, 1998), l'acacia (Hatimi *et al.*, 1998) et les céréales (Driouich & Rachidai, 1996; Aouade *et al.*, 1998 ; El Madidi *et al.*, 1998 ; Sibi & Fakiri, 2000) .

CONCLUSION

L'étude de la germination et de la croissance *in vitro* des amandes d'*Argania spinosa* en milieu salin a permis de conclure que :

- les graines d'arganier arrivent à germer même à une concentration en NaCl de 9 g/l avec un pouvoir germinatif de 69%, confirmant ainsi une tolérance au sel au stade juvénile ;
- l'émergence de l'axe caulinaire a été très affectée par les concentrations croissantes de NaCl ;
- les concentrations élevées en NaCl entravent d'une façon significative la croissance et la productivité de l'appareil végétatif, sauf pour la concentration de 1 g/l ;
- l'effet du sel semble affecter plus la croissance et la productivité que la germination au sens strict ;
- la partie aérienne semble être plus touchée par le stress salin que la partie souterraine ;
- l'évolution de la germination, de la croissance et de la matière sèche est très influencée par les différentes concentrations en NaCl ;

Toutefois, la tolérance de l'arganier au sel *in vitro* devrait être vérifiée par des essais *in vivo* et à différents stades phénologiques. L'existence possible d'une variabilité pour la tolérance au sel entre les graines de Tikermin et celles du sud pourrait être exploitée pour sélectionner des clones plus tolérants.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Ahmad I., Lahrer F. & Stewart G.R. (1979) Sorbitol, a compatible osmotic solute in *Plantago maritima*. *New Phytol.* (82) : 671-678
- Aoud A., Baaziz A. & Mergoum M. (1998) Évaluation des peroxydases comme marqueurs dans l'amélioration pour la tolérance à la salinité du blé et d'autres céréales. *Journées Scientifiques sur le blé* (Oujda)
- Aslam Z., Jeschke W.D., Barrett-Lennard E.G., Setter T.L., Watkim E. & Greenway H. (1986) Effects of external NaCl on the growth of *Atriplex amnicola* and the ion relations and carbohydrate status of the leaves. *Plant Cell and Environment.* (9) : 571-580
- Bani-Aameur F. & Janis Sipple Michmerhuizen (1999) Variabilité de la germination et de la croissance des plantules d'arganier sous des conditions salines. *Résumé des communications. Les premières journées de L'UFR. État de l'environnement et biodiversité des Écosystèmes terrestres.* Faculté des Sciences, Marrakech, 20-23 avril
- Bouzoubaa Z. (1995) Effet du sel sur la germination de l'arganier *Argania spinosa* L. Skeels *Actes du colloque international la forêt face à la désertification "cas des Arganeraies"* Faculté des Sciences, Agadir 26-28 octobre, pp. 100-103
- Bouzoubaa Z. & El Mourid M. (1998) Caractérisation physiologique de la tolérance au sel des jeunes plants d'arganier. Mécanisme de tolérance. *Actes du colloque international sur les ressources végétales "L'Arganier et les plantes des zones arides et semi-arides"* Faculté des Sciences, Agadir, 23-25 avril pp. 31-37
- Driouich A. & Rachidai A. (1996) Effet du traitement salin sur la croissance du blé dur (*Triticum durum* Desf). *Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc)* 16 (1) : 33-40
- FAO (1988) Programme de coopération technique. Programme de développement des productions et de l'élevage. Rapport de synthèse, 45 p.
- Greenway H. & Munns R (1980) Mechanisms of salt tolerance in non halophyte. *Ann. Rev. Plant Physiol.* (31) : 149-190
- Lessani H. & Marshner H. (1978) Relation between salt tolerance and long-distance transport of sodium and chloride in various crop species. *Aust.J. Plant Physiol.* (5) : 27-37
- Marshner H. (1986) Mineral nutrition of higher plants. (ed), Academic Press, New York.
- Malek-Maalej E., Boulasnem F. & Bensalem M. (1998) Effet de la salinité sur la germination de graines de céréales cultivées en Tunisie. *Cahier Agriculture* (7) : 153-156
- El Madidi S., Elbaroudi B., Bani-Aameur F. & Amri A. (1998) Caractérisation de la tolérance à la salinité chez quelques cultivars d'orge du Sud au Maroc. *Actes du colloque international sur les ressources végétales "L'Arganier et les plantes des zones arides et semi-arides"* Faculté des Sciences Agadir 23-25 avril pp. 27-30
- Haloui B. (1991) La végétation du Maroc oriental. Phytoécologie Phytomasse Minéralomasse et productivité des principaux écosystèmes forestiers. Thèse de Doctorat, Université Mohammed 1^{er} Oujda, 180 p.
- Hatimi A., Elghazouli & Saadi B. (1998) Effet de la salinité sur l'association symbiotes racinaires-*Accacia cyanophylla*. *Actes du colloque international sur les ressources végétales "L'Arganier et les plantes des zones arides et semi-arides"* Faculté des Sciences, Agadir, 23-25 avril pp. 38-44
- M'hirit O. (1987) L'arganier : une espèce fruitière-forestière à usage multiple. *Séminaire sur les espèces ligneuses à usage multiple des zones arides méditerranéennes.* Institut Agronomique méditerranéen, Saragosse, Espagne, 25-26 septembre
- Tal M. (1985) Genetics of Salt tolerance in higher plants theoretical consideration. *Plant and Soil* 89 : 199-226
- Thornton F.C., Schaedle M. & Raynal D.J. (1988). Sensitivity of red oak (*Quercus rubra* L.) and american beech (*Fagus grandifolia* Ehrh) seedling to sodium salt in solution culture. *Tree Physiology.* 4 : 167-172
- Sibi M.L. & Fakiri M. (2000) Androgenèse et gynogenèse, source de vitroviation et de tolérance à la salinité chez l'orge *Hordeum vulgare*. *Note de recherche Sécheresse* 2 (11) : 125-132