

Effet des mycorhizes à vésicules et arbuscules sur la croissance et la nutrition de l'arganier (*Argania spinosa* L.)

Farah BOUSSELMAME¹, Lahcen KENNY^{2a} & Mohammed ACHOURI²

(Reçu le 30/04/2001 ; Accepté le 16/05/2003)

أثير افطرات الجذرة لى نمو و غذة الأركان

بينت ذه ادر اة إكايه المقيح الإصطناعي شرة أر كان افطرات الجذرة و قد تم لمقيح يرات الأركان نو بين ن طر لو وس sp1 و sp2. و عد أر عة أهرن انمو تحت ايو ت المغطية، بين أن عدل إبان افطر لذور وصل إلى 70% ما أن صيلة sp1. مات المة ي اياح الجذور شهر ل افصيلة sp2. و د كن عاش اشير ات مع افطرات ن ر مع اكلة الجلة لمشيرات بمعدل 120% انة لماق و 70% انة لذور. ما أن الميل المعدي هذا انموين ار فاللو ماي ر يز اعناصر المية : افو فور، او ايو م، اكيو م، المنغنيز و اناس قار ع اشاد. نلش ادر اة ذك أمية اناج المحصل ليها ي إكايه تجدد الحر اة اصنعي ي المناق الجاة.

اكلما ت المفاية : أر كان - طر ات ذر - ل و س - نمو - غذة عدية

Effet des mycorhizes à vésicules et arbuscules sur la croissance et la nutrition de l'arganier (*Argania spinosa* L.)

La présente étude démontre la possibilité d'inoculer artificiellement des plants d'arganier avec des mycorhizes à vésicules et arbuscules. L'inoculation des plants issus de semis a été effectuée par deux souches de *Glomus* sp1 et sp2. Après 4 mois de culture sous serre, le taux d'infection des racines a atteint 70%. La symbiose mycorhizienne par la souche sp1 a eu lieu un mois plutôt que celle de la souche sp2. Le gain en biomasse sèche était de 120% pour les parties aériennes et de 70% pour les parties racinaires. L'analyse du profil minéral des plants inoculés a montré une augmentation significative des concentrations de P, K, Ca, Mn et Cu par rapport au témoin. L'importance de ces résultats sur la réhabilitation des zones arides est discutée.

Mots clés: Arganier (*Argania spinosa* L.) - Mycorhizes à vésicules et arbuscules - *Glomus* - Semis - Croissance - Nutrition minérale

Effect of vesicular arbuscular mycorrhizae for argan (*Argania spinosa* L.)

The present study demonstrate the possibility of inducing artificial symbioses between Argan and the vesicular arbuscular mycorrhizae. Argan seedlings were inoculated with two strains of *Glomus* sp1 et sp2. After 4 months of growth under plastic-house conditions, 70% of the seedlings showed fungus mycelia in their roots. The symbioses was induced one month earlier with the strain sp1 compared to sp2. Seedling shoot and root dry weight increased by 120% and 70% respectively as a result of inoculation. Mineral analysis in the plants showed a significant increase in P, K, Ca, Mn and Cu concentrations compared to the control. The relevance of those results for arid land rehabilitation is discussed.

Key words: Argan (*Argania spinosa* L.) - Vesicular arbuscular mycorrhizae - *Glomus* - Seedling - Growth - Mineral nutrition

¹ UFR d'Amélioration des plantes par les méthodes de biotechnologie, Faculté des Sciences, Université Mohammed-V, B.P. 1014, Rabat, Maroc

² Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Complexe Horticole d'Agadir, B.P. 121, Ait Melloul, Agadir

^a Auteur correspondant; e-mail: kenny@mtds.com

INTRODUCTION

Les champignons mycorhiziens à vésicules et arbuscules (MVA) ont suscité beaucoup d'intérêt durant les vingt dernières années, à cause de leur effet favorable principalement sur l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs (Kormanik *et al.*, 1982; Fontana, 1985; Strullu, 1990). L'accent a été particulièrement mis sur le genre *Glomus* qui est le plus ubiquiste parmi les genres formant le groupe des MVA (Strullu, 1990). L'intérêt de l'association symbiotique avec le genre *Glomus* pour la croissance et le développement ainsi que l'implantation d'espèces ligneuses en conditions de milieu défavorables a été abondamment décrit dans la littérature notamment chez les arbres fruitiers comme le merisier (Pons *et al.*, 1983), le kiwi (Calvet *et al.*, 1989), le palmier dattier (Oihabi, 1991), le pommier (Morin *et al.*, 1994) et l'olivier (Citernesi *et al.*, 1998). La symbiose mycorhizienne est alors réalisée soit directement *in vitro* (conditions axéniques), soit en pépinière sur substrat stérile (conditions gnotoxéniques).

Les endomycorhizes à vésicules et arbuscules permettent à la plante d'acquérir les éléments minéraux, spécialement, les éléments peu mobiles dans le sol comme le phosphore, le cuivre et le zinc (Strullu, 1991; Harrison, 1999). L'efficacité des systèmes racinaires mycorhizés est due principalement à une extension de la surface d'absorption et du volume du sol prospecté grâce aux hyphes fongiques. Plenchette (1982) a démontré que la zone d'épuisement des sels minéraux par les poils absorbants est limitée à quelques millimètres autour des racines, alors que la zone d'exploration par la mycorhize peut s'étendre jusqu'à 10 cm.

Les résultats des prospections écologiques effectuées par Achouri (1989) dans la région du Souss Massa ont montré que l'arganier, comme la majorité des espèces forestières, forme des endomycorhizes. Il a été également constaté lors de ces prospections, une prédominance et une large distribution du genre *Glomus*, due à son taux de sporulation élevé et à sa forte adaptation aux conditions pédoclimatiques de la région (pluviométrie faible, sols alcalins et pauvres en sels minéraux).

Par ailleurs, l'arganier connaît une régression alarmante vu les conditions écologiques difficiles de son aire de répartition: aridité du climat et pauvreté des sols. Les services des Eaux et Forêts ont tenté de régénérer cette espèce par plantation

à plusieurs reprises mais sans succès (Harrouni *et al.*, 1998). Les plants produits dans les pépinières sont pourvus d'un système racinaire (pivot) peu vigoureux et faiblement ramifié et ne peuvent pas, en conséquence, supporter le stress hydrique auquel ils sont confrontés après transplantation. Cette étude a visé le développement d'une technique de mycorhization pour l'arganier, en stade de pépinière, afin d'améliorer la croissance initiale des plants, particulièrement en matière de leur enracinement, d'une part, et de permettre ainsi de pallier au manque de reprise des plants après leur transfert en plein champ, d'autre part.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Semis et substrat de culture

Les graines d'arganier ont été dépulpées et désinfectées dans une solution d'eau de Javel (5%), puis rincées et trempées dans de l'eau tiède pendant 48 heures. Le semis a été réalisé dans des sachets en polyéthylène (6L de volume) contenant un mélange de sable et de tourbe (2:1 v/v). Le sable a été tamisé (taille des mailles = 5 mm), puis recouvert d'eau à laquelle a été ajouté un litre d'une solution d'eau de Javel commercial (3,75% NaOCl) et laissé pendant trois jours. Le sable a été ensuite bien rincé et stérilisé pendant deux heures à l'autoclave. La tourbe a été stérilisée pendant trois heures à l'autoclave.

2. Inoculation

L'inoculation mycorhizienne a été réalisée par deux souches sélectionnées de *Glomus* sp1 et sp2 (fournies par le laboratoire de mycologie, IAV Hassan II-CHA-Maroc). Les champignons endomycorhizogènes étant des symbiotes obligatoires, l'inoculum a été donc maintenu en multiplication sur des racines d'oignon. Au terme de neuf semaines de culture sous serre, la coloration des racines d'oignon a montré plus de 80% de plants infectés et le nombre de spores compté pour 100 g de sol a été, en moyenne, de 940 spores. L'inoculation des graines a été effectuée par l'apport de 100 g du substrat de la culture d'oignon, comprenant les spores et les racines mycorhizées, dans le creux où les graines ont été semées. Pour les plants témoins n'ayant reçu aucun inoculum, les graines ont été déposées directement sur le substrat stérile sans apport de champignons. Les plants ont été cultivés dans une serre delta 9 sous une température de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ et une humidité relative de 65%. Ils ont été arrosés régulièrement deux fois par semaine sans apport

de fertilisants. L'essai a été mené selon un dispositif en blocs complètement aléatoire avec 3 blocs et 12 plants par unité expérimentale.

3. Expression des résultats

La vérification de la présence des MVA dans les racines d'arganier a été faite toutes les 4 semaines pendant une durée de six mois afin d'identifier le stade où les plantules d'arganier deviennent mycotrophes. Les racines ont été lavées abondamment à l'eau distillée puis découpées en fragments de 1 cm de longueur. On leur a fait subir la procédure de coloration de Philips & Hayman (1970) avant de les étaler entre lames et lamelles. Le taux d'infection a été estimé, sous loupe binoculaire (G X 40), à partir du nombre de fragments montrant les arbuscules et/ou les vésicules sur le total de fragments colorés. L'effet des MVA sur l'arganier a été évalué par un suivi mensuel de la croissance des plantules. Les mesures ont concerné la hauteur de la tige à partir du collet jusqu'à l'apex. Au terme de six mois de culture, les poids frais et secs des tiges et des racines ont été rapportés. Les poids frais ont été déterminés par pesées directes et les poids secs ont été mesurés après séchage à l'étuve à 65°C pendant 72 heures.

L'effet de la symbiose sur la nutrition minérale des plantules a été évalué par le dosage des macroéléments (N, P, K) et des microéléments (Fe, Mn, Cu et Zn) au niveau des parties aériennes.

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel STATITCF et les moyennes comparées par le test de Newman & Keuls au seuil de probabilité de 5%.

RÉSULTATS

La figure 1 montre que l'infection des racines de l'arganier par les endomycorhizes a eu lieu dès le premier mois de culture. Cependant, la souche sp1 s'est installée plus rapidement que la souche sp2. En effet, au troisième mois, la souche sp1 a atteint un taux d'infection de l'ordre de 60% contre uniquement 34,4% chez sp2. Pour les deux types d'inocula, le taux d'infection a atteint 70% entre le quatrième et le cinquième mois et s'est maintenu constant.

Comparés au témoin, les souches ont stimulé la croissance en hauteur des plants inoculés (Figure 2). Au terme de six mois de culture sous serre, les gains en longueur ont été de 83% pour les souches sp1 et de 51% pour les souches sp2.

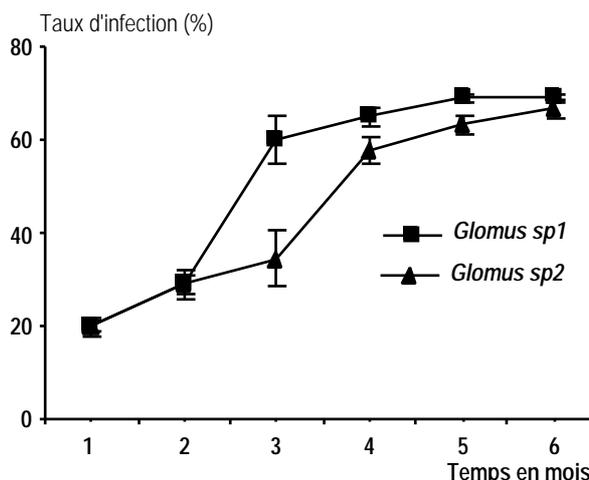


Figure 1. Évolution du taux d'infection des plants d'arganier inoculés par deux souches *Glomus* dans des conditions contrôlées

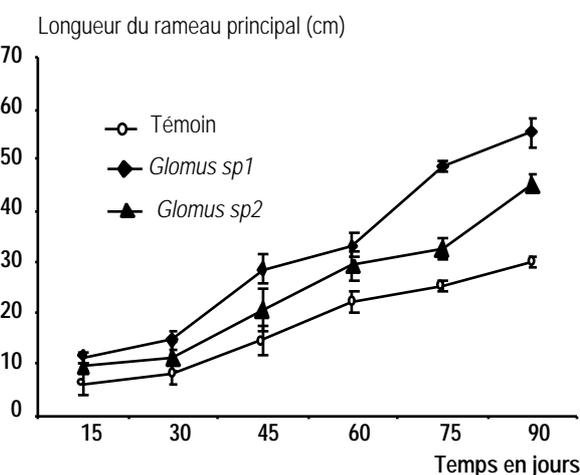


Figure 2. Évolution de la croissance en hauteur des plants mycorhizés

Les poids frais et secs des plants mycorhizés, déterminés après six mois de culture, sont rapportés dans la figure 3. Pour les deux types d'inocula, la production de biomasse a été plus importante chez les plants mycorhizés que les témoins. Le gain en poids frais a été, en moyenne, de 77% dans les tiges et de 80% dans les racines. En poids secs, le gain a été en moyenne de 120% dans les tiges et de 70% dans les racines.

Les résultats de l'effet des MVA sur la teneur de l'arganier en éléments minéraux sont présentés dans le tableau 1. Les plants endomycorhizés par *Glomus* sp1 ont présenté des teneurs en P, K, Ca, Mn et Cu significativement (au seuil $p < 0,05$) plus élevées que les plants non inoculés. Chez les plants inoculés par la souche sp2, les concentrations en phosphore, potassium, manganèse et cuivre ont été également significativement différentes du

témoin. L'azote, le fer et le zinc ont été les seuls éléments minéraux n'ayant pas été influencés par l'apport de symbiotes.

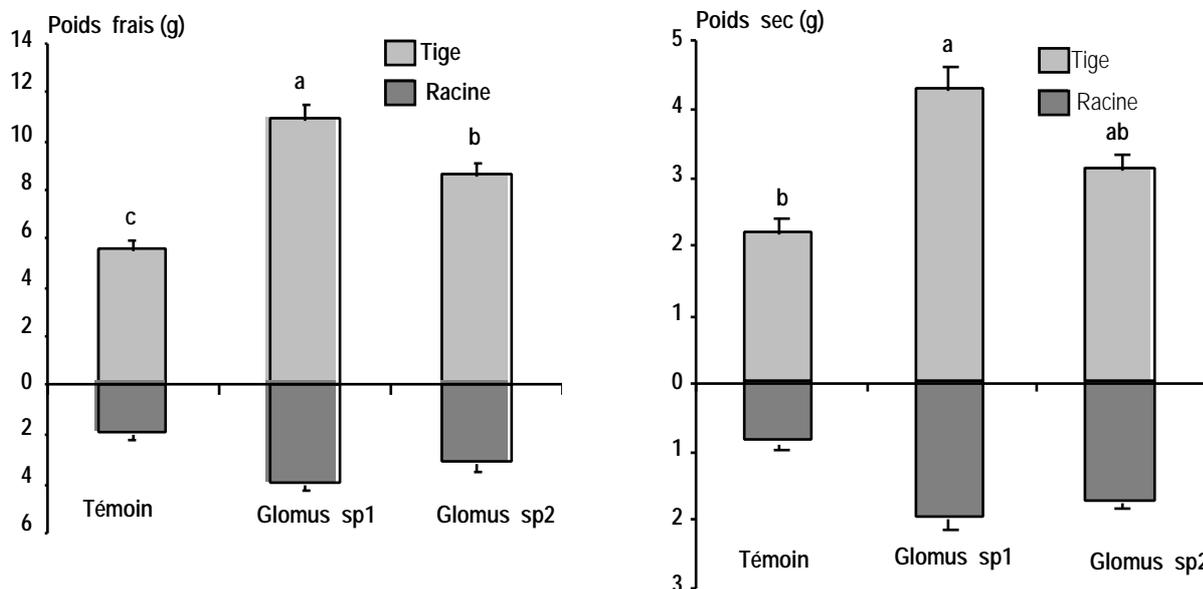


Figure 3. Poids frais et sec des parties aériennes et racinaires évalués six mois après inoculation par deux souches *Glomus* (Séparation entre les moyennes par le test de Newman & Keuls au seuil $p > 0,05$)

Tableau 1. Concentration des sels minéraux dans les parties aériennes et racinaires des plants d'arganier six mois après l'inoculation par deux souches endomycorhiziennes de *Glomus* dans des conditions contrôlées

	Teneurs des sels minéraux.....							
En pourcentage de matière sèche En PPM			
	N	P	K	Ca	Fe	Mn	Cu	Zn
Plants inoculés par la souche <i>Glomus</i> sp1	2,51±0,01a*	0,27±0,11a	1,4±0,06a	2,02±1,2a	239±4,24a	31,2±1,39a	28,8±2,79a	35,25±1,06a
Plants inoculés par la souche <i>Glomus</i> sp2	2,42±0,03a	0,22±0,01b	1,29±0,04a	1,65±0,5b	227,3±4,67a	45,6±0,3a	22,2±2,79a	34±1,06a
Plants témoins	2,45±0,06a	0,15±0,01c	1,04±0,04b	1,55±0,72b	224,2±8,67a	43,1±0,14b	19,2±2,79b	40±0,71a

* Les valeurs d'une même colonne suivies de lettres différentes sont significativement différentes pour $p < 0,05$ (Test de Newman & Keuls)

DISCUSSION

Dans les conditions de notre étude, l'arganier a présenté un taux élevé de mycorhization de l'ordre de 70%, trois mois après l'inoculation avec la souche *Glomus* sp1 et un mois plus tard pour la souche sp2. Les courbes d'infection endomycorhizienne ont été superposables, avec une supériorité dans le pouvoir infectieux de la souche sp1. L'allure de la cinétique d'infection représente une forme sigmoïde. Gianinazzi-Pearson *et al.* (1985) ont montré chez le trèfle et l'oignon que la cinétique de mycorhization se présente sous la même forme. La même constatation a été rapportée plus tard chez le trèfle

par Oihabi & Meddich (1996). Moss *et al.* (1981) distinguent trois phases dans la cinétique de mycorhization: la phase initiale qui correspond à l'installation du champignon mycorhizogène; la phase d'augmentation rapide de l'infection suivie en troisième lieu du plateau qui constitue la phase de stabilisation de l'infection. Pour l'arganier, le plateau a été atteint au bout du quatrième mois. D'après Plenchette & Fardeau (1988), le taux ainsi que la durée de l'infection dépendent de trois facteurs: l'hôte utilisé; le pouvoir infectieux du champignon mycorhizogène et le substrat de culture. Le retard noté dans l'infection par la souche sp2 peu être attribué à son faible pouvoir infectieux.

Par ailleurs, l'endomycorhization des plants d'arganier par les souches *Glomus* a amélioré leur nutrition minérale. Plusieurs travaux ont mis l'accent sur l'action des mycorhizes dans la nutrition des plantes (Oihabi & Meddich, 1996; Plenchette & Strullu, 1996). Les deux souches testées ont stimulé l'absorption des macroéléments, en particulier le phosphore, le potassium et le calcium, et des microéléments en particulier le manganèse et le cuivre. L'amélioration de la nutrition minérale s'est traduite par une production de biomasse (exprimée en poids secs) importante au niveau des plants inoculés. Strullu (1991) attribue cet effet aux hyphes extramatricielles du champignon qui permettent d'explorer un volume considérable du substrat, en plus des arbuscules intramatricielles qui augmentent la surface d'échanges et d'assimilation des sels minéraux en faveur de l'hôte. Ceci peut être vital pour la replantation de l'arganier dans son milieu naturel, en raison des teneurs très faibles en eau et en éléments nutritifs. Le transfert de plants aux systèmes racinaires, pourvus de symbiotes efficaces et adaptés aux conditions pédoclimatiques de la région, peut améliorer l'alimentation hydrique et minérale, et par conséquent, la tolérance des plants aux stress abiotiques auxquels ils sont confrontés au Sud Ouest marocain.

Plusieurs auteurs ont évoqué l'intérêt potentiel de la mycorhization contrôlée pour la sylviculture (Kormanik *et al.*, 1982; Calvet *et al.*, 1989; Oihabi et Meddich, 1996; Hatimi *et al.*, 1997). Des améliorations importantes dans le taux de reprise ont été obtenues lors de la plantation, dans des milieux très défavorables, de nombreuses espèces forestières comme le châtaignier (Strullu *et al.*, 1986), le chêne (Boutekrabort *et al.*, 1999), le pin et le noisetier (Strullu & Plenchette, 1991). L'apport de symbiotes fongiques améliore l'assimilation de l'eau et des éléments nutritifs par les plants et contribue, en conséquence, à une amélioration de leur taux de reprise surtout durant les premiers mois suivant leur mise en place dans les conditions naturelles (Nouaim, 1994).

CONCLUSION

La présente étude permet de confirmer la dépendance de l'arganier vis-à-vis des mycorhizes à vésicules et arbuscules. L'inoculation artificielle par deux souches de *Glomus* sp1 et sp2 a permis une amélioration de la croissance et de la nutrition

des plantules avec une supériorité de l'infection de la souche sp1. Ces résultats nous incitent donc à mener une étude plus approfondie visant la sélection de souches autochtones, présentant à la fois un pouvoir infectieux élevé et une bonne adaptation aux conditions édaphiques de la forêt d'arganier.

La mycorhization des plants d'arganier telle qu'elle a été démontrée dans la présente étude, en pépinière, avant le transfert au champ devrait constituer une étape impérative dans tous programmes de reboisement ou de sylviculture.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé en partie par la GTZ dans le cadre du projet "Contribution à la conservation et au développement de l'arganeraie".

RÉFÉRENCES CITÉES

- Achouri M (1989) Endogonaceae of Souss Massa, Morocco. PhD Thesis, university of Minnesota, USA, 121 p.
- Boutekrabort A, Chevalier G, Pargney JC & Dexheimer J (1990) Mycorhization par *Tuber melanosporum* Vitt de vitroplants de *Quercus robur* L et *Quercus pubescens* Willd. *Agronomie* 2: 127-132
- Calvet C, Pera J, Estaun V & Camprub A (1989) Vesicular arbuscular mycorrhizae of kiwifruit in an agricultural soil: inoculation of seedlings and hardwood cuttings with *Glomus mosseae*. *Agronomie* 9: 181-185
- Citernes AS, Vitagliano C & Giovannetti M (1998) Plant growth root system morphology of *Olea europaea* L. Rooted cuttings as influenced by arbuscular mycorrhizas. *S J Horticult Sci Biotechnol* 73(5): 647-654
- Fontana A (1985) Vesicular arbuscular mycorrhizas of *Ginkgo biloba* L. in natural and controlled conditions. *New Phytol* 99: 441-447
- Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S & Trouvelot A (1985) Evaluation of the infectivity and effectiveness of indigenous vesicular arbuscular fungal populations in some agricultural soils of Burgundi. *Can J Bot* 63: 1521-1524
- Harrison MJ (1999) Interfaces and nutrient transport in plant / fungal symbioses. *Journal of Experimental Botany, Special Issues* 50: 1013-1022

- Harrouni MC, Zahri S, & El Hémaûd A (1995) Transplantation des jeunes plantules d'arganier: effets combinés de techniques culturales et du stress hydrique. Actes du Colloque international sur la forêt face à la désertification "cas des arganeraies". Agadir 23, 24 et 25 avril, pp. 124-131
- Hatimi A, Achouri M & Oihabi A (1997) Endomycorhization de légumineuses fixatrices des dunes. *Sécheresse* 8(2): 99-102
- Kormanik PP, Schultz RC & Bryan WC (1982) The influence of vesicular arbuscular mycorrhizae on the growth and development of eight hardwood tree species. *For Sci* 28: 531-539
- Morin F, Fortin JA, Hamel C, Granger RL & Smith DL (1994) Apple rootstock response to vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in a high phosphorus soil. *J Amer Soc Hort Sci* 119(3): 578-583
- Moss B, Stribley DP & Le Tacon F (1981) Ecology of mycorrhizae and mycorrhizal fungi. *Advances Microbial Ecology* 5: 134-210
- Nouaim R (1994) Écologie microbienne des sols d'arganeraies: activités microbiologiques des sols et rôle des endomycorhizes dans la croissance et la nutrition de l'arganier (*Argania spinosa* L.). Thèse de doctorat d'État, Agadir, 193 p.
- Oihabi A (1991) Étude des endomycorhizes à vésicules et arbuscules sur le Bayoud et la nutrition du palmier dattier. Thèse de doctorat d'État, Marrakech, 117 p.
- Oihabi A & Meddich A (1996) Effet des mycorhizes à arbuscules (MA) sur la croissance et la composition minérale du trèfle. *Cahiers Agricultures* 5(5): 382-386
- Philips JM & Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing and saining parasitic and vesicular arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br Mycol Soc* 55: 158-161
- Plenchette C (1982) Les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (VA). Un potentiel à exploiter en agriculture. *Phytoprotection* 63: 86-108
- Plenchette C & Fardeau JC (1988) Effet du pouvoir fixateur du sol sur le prélèvement de phosphore du sol par les racines et les mycorhizes. *C R Acad Sci Paris* 306: 201-206
- Plenchette C & Strullu DG (1996) Les mycorhizes, situation et perspectives pour le pépiniériste et l'horticulteur. *PHM Revue Horticole* 365: 72-76
- Pons F, Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S & Navatel JC (1983) Studies of VA mycorrhizae *in vitro*: mycorrhizal synthesis of axenically propagated wild cherry (*Prunus avium* L.) plants. *Plant and Soil* 71: 217-221
- Strullu DG, Grellier B, Marciniak D & Letouzé R (1986) Micropropagation of chestnut and conditions of mycorrhizal syntheses *in vitro*. *New Phytol* 102: 95-101
- Strullu DG (1990) Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées. Collection TEC & DOC, Lavoisier, Paris, 250 p.
- Strullu DG & Plenchette C (1991) Les mycorhizes en horticulture. *PHM Revue Horticole* 352: 50-55