

Amélioration de la germination de la luzerne (*Medicago sativa* L.) sous stress salin par traitement pré-germinatif

M. Farissi¹, M. Mouradi², A. Bouizgaren³, C. Ghoulam²

La luzerne est une culture essentielle dans nombre de régions arides et semi-arides. Ces zones sont fréquemment marquées par la salinisation des sols et des eaux d'irrigation qui compromet la bonne implantation de cette culture. Un traitement pré-germinatif ouvre des perspectives pour améliorer la tolérance de la luzerne à la salinité.

RÉSUMÉ

Les graines de la population marocaine de luzerne Taf 2 ont été prétraitées par trempage pendant 24 h dans une solution à 200 mM NaCl, avant d'être mises à germer avec ou sans stress salin (milieux à 200 mM et 0 mM NaCl). Par rapport au témoin (sans traitement pré-germinatif), les graines qui ont germé sous conditions salines ont eu un taux de germination (89,17 %), un indice de vitesse (14,9) et une longueur de la racine (2,30 cm) significativement supérieurs, alors que ce n'était pas le cas en situation non saline. Les valeurs de ces mêmes paramètres étaient de 80 %, 13,33 et 1,54 pour les graines mises à germer sous stress salin mais sans traitement pré-germinatif.

SUMMARY

Using a pretreatment to improve lucerne (*Medicago sativa* L.) germination under saline conditions

Lucerne is a key crop in many arid and semiarid regions that are experiencing soil and water salinisation, which both negatively affect lucerne growth. In this study, we observed that pretreating the seeds of a Moroccan lucerne population (Taf 2) increased their salinity tolerance. The pretreatment consisted of soaking seeds in a 200 mM NaCl solution for 24 h. Control seeds and pretreated seeds were then grown under normal and saline conditions (i.e., where environmental NaCl concentrations were 0 mM and 200 mM, respectively). There was no difference in germination between the two seed groups under normal conditions. However, under saline conditions, the pretreated seeds had significantly greater germination success (89.17 %), germination velocity (index value of 14.9), and radicle length (2.30 cm). For the control seeds, these values were 80 %, 13.3, and 1.54 cm, respectively.

Dans le bassin méditerranéen, la luzerne constitue la première plante fourragère. Elle est largement impliquée dans les systèmes agricoles en raison de la fixation symbiotique d'azote qu'elle permet. Au Maroc, sa culture représente plus de 22 % de la superficie totale allouée aux cultures fourragères et représente 50 % des unités fourragères totales produites (BOUIZGAREN, 2007). Selon JANATI (1990), les populations locales de cette culture sont très utilisées dans les agro-écosystèmes traditionnels marocains (oasis et montagnes) où elles représentent plus de 80 % des cultures fourragères et contribuent au développement socio-économique des familles locales.

Le taux élevé de sel dans les sols ou les eaux d'irrigation est une préoccupation environnementale majeure et un problème sérieux pour l'agriculture des régions arides et semi-arides. En effet, cette contrainte constitue l'un des facteurs limitants de la productivité végétale en général et de celle de luzerne en particulier (MEZNI *et al.*, 1999 ; IBRIZ *et al.*, 2004). En effet, chaque année, dans le monde, environ 20 millions d'hectares deviennent impropres à l'agriculture en raison de la **salinité des sols**. Aujourd'hui, **les surfaces agricoles affectées par ce problème seraient de 340 millions d'hectares** soit 23 % des terres cultivées de la planète (BELFAKIH *et al.*, 2013).

AUTEURS

1 : Laboratoire Polyvalent en Recherche & Développement, Département de Biologie, Faculté Poly-disciplinaire, BP 592, Mghila, Béni-Mellal 23000 (Maroc) ; farissimohamed@gmail.com, m.farissi@usms.ma

2 : Equipe de Biotechnologie Végétale et Agro-physiologie des Symbioses, Faculté des Sciences et Techniques-Guéliz, BP 549, Marrakech 40000 (Maroc)

3 : Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), BP 533, Marrakech 40000 (Maroc)

MOTS CLÉS : Croissance végétale, facteur édaphique, facteur limitant, luzerne, Maroc, population de pays, semis, stress salin.

KEY-WORDS : Alfalfa, edaphic factor, herbage growth, landraces, limiting factor, *Medicago sativa*, Morocco, salt stress, seeding.

RÉFÉRENCE DE L'ARTICLE : Farissi M., Mouradi M., Bouizgaren A., Ghoulam C. (2016) : "Amélioration de la germination de la luzerne (*Medicago sativa* L.) sous stress salin par traitement pré-germinatif", *Fourrages*, 228, 261-264.

L'excès de sel dans le sol affecte la germination, la croissance des plantules et leur vigueur, la phase végétative, la floraison et la fructification à des degrés variables conduisant à des baisses de rendement et de qualité de la production (NEDJIMI *et al.*, 2013 ; LATRACH *et al.*, 2014 ; FARISSI *et al.*, 2014a). Cependant, **le stade de germination constitue l'étape clé de développement de la plante et détermine sa tolérance ou sa sensibilité à la salinité** (FARISSI *et al.*, 2011).

Pour remédier au problème de salinité, des génotypes tolérants devraient être sélectionnés. Toutefois, l'induction des réponses physiologiques et biochimiques associées à la tolérance par traitement pré-germinatif des semences avant leur germination par des agents osmotiques pourrait constituer une approche très prometteuse pour l'amélioration de la tolérance des génotypes au sel aussi bien lors de la germination que, ultérieurement, pour la plante. Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif d'évaluer l'effet positif du traitement pré-germinatif des semences de *Medicago sativa* par NaCl dans sa tolérance à la salinité durant le stade germination.

1. Matériel et méthodes

■ Matériel végétal utilisé

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est constitué d'une **population marocaine de la luzerne Tafilalet 2** (Taf 2). Cette population est originaire de l'oasis marocaine Tafilalet où elle est cultivée depuis des centaines d'années par des paysans dans ce système agricole traditionnel. Les populations marocaines de luzerne ont évolué selon un processus complexe où sont intervenus la sélection naturelle et humaine et les flux géniques intraspécifiques engendrant, durant des centaines d'années, une variabilité génétique très importante. Par conséquent, ce matériel génétique local renferme des caractéristiques morphologiques distinctives par rapport aux autres variétés de luzerne. Il renferme également des caractéristiques d'adaptation à de nombreux stress biotiques et abiotiques présents dans les différents

écosystèmes de notre pays tels que la sécheresse, le froid et la salinité (BOUIZGAREN *et al.*, 2011 ; FARISSI *et al.*, 2011 et 2014b). Les semences ont été fournies par l'Institut National de la Recherche Agronomique de Marrakech.

■ Traitement pré-germinatif

Les graines ont été désinfectées avec de l'hypochlorite de sodium 6 % puis ont été rincées plusieurs fois avec de l'eau distillée stérile ; elles ont ensuite été mises à **trempier dans une solution saline de 200 mM NaCl pendant 24 h à 25°C**. Après le traitement, les graines ont été rincées avec de l'eau distillée cinq fois et laissées sécher 48 h à température ambiante pour retrouver leur humidité originale (12-13 %).

■ Germination des graines et application du stress salin

Les graines ainsi prétraitées et celles non traitées ont été mises à germer pendant 6 jours à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ dans l'obscurité totale dans des boîtes de Petri (9 cm de diamètre) contenant 2 couches de papier filtre stérile. Trois répétitions de 40 graines par traitement et par concentration de la solution saline (0 mM et 200 mM NaCl) ont été effectuées. Une graine a été considérée germée lorsque la radicule dépasse de 2 mm du tégument de la graine. Le pourcentage final de germination, l'indice de vélocité et la longueur de la radicule ont été mesurés pour étudier l'effet du traitement pré-germinatif sur la germination sous stress salin. Le nombre des graines germées a été calculé chaque jour.

■ Evaluation des paramètres de germination

L'évaluation de l'effet du traitement pré-germinatif sur la germination des semences de luzerne sous stress salin a porté sur les paramètres suivants :

- Le **taux de germination** :

$$\text{Germination (\%)} = \left(\frac{N_t}{N_i} \right) \times 100,$$

avec N_t , le nombre de semences germées au temps t , et N_i , le nombre de semences mises à germer.

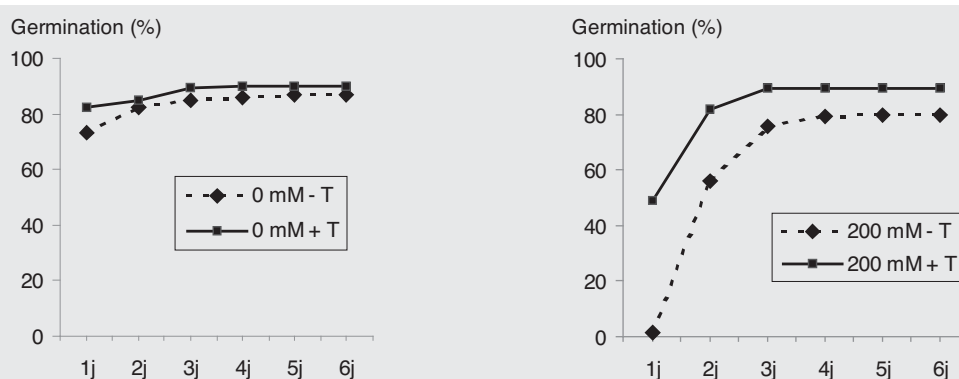


FIGURE 1 : Cinétique de germination de la population marocaine de luzerne Taf 2 selon la salinité du milieu (0 et 200 mM NaCl), avec ou sans traitement pré-germinatif (+T et -T) (moyennes de 3 répétitions de 40 semences chacune).

FIGURE 1 : Germination success in a Moroccan lucerne population (Taf 2) for control (-T) and pretreated (+T) seeds grown under normal versus saline conditions (0 mM vs 200 mM NaCl). The points represent the means for 3 replicates containing 40 seeds each.

- **L'indice de vélocité de la germination**, estimé par l'indice Timson (KHAN et UNGAR, 1984) et ainsi défini :

$$\text{Indice de vélocité} = \Sigma G / T,$$

avec G, le pourcentage de germination à un intervalle de temps de 2 jours, et T, la période totale de germination.

- La **longueur de la racicule** a été mesurée à l'aide d'une règle graduée pour évaluer la croissance de la plantule vis-à-vis du stress salin, après 6 jours de germination.

■ Analyse statistique

L'analyse statistique (test ANOVA II) a été effectuée en utilisant le logiciel SPSS (10.0).

2. Résultats et discussion

■ Effet sur le taux de germination

La figure 1 représente l'effet du stress salin (200 mM NaCl) sur les taux de germination des graines de la population Taf 2 ayant subi ou pas un traitement pré-germinatif avec 200 mM NaCl pendant 24 h. En absence de sel dans le milieu de germination (0 mM NaCl), on note une différence légère mais non significative ($P > 0,05$) entre les graines prétraitées avec 200 mM NaCl et celles mises à germer sans aucun prétraitement au préalable. En revanche, une **différence significative** ($P < 0,001$) a été observée entre les deux lots (avec et sans traitement pré-germinatif) **lorsque leur germination s'est effectuée dans un milieu contenant 200 mM NaCl**. En effet, des pourcentages finals de germination d'ordre 80 et 89,17 % ont été enregistrés chez les graines non traitées et prétraitées respectivement.

Selon FARISSI *et al.* (2011), le NaCl affecte négativement la germination des semences de luzerne par un effet osmotique et ionique causant une perturbation des réserves

embryonnaires nécessaires à la croissance et au développement de l'embryon. Le traitement pré-germinatif des graines avec des agents osmotiques a été précédemment rapporté pour augmenter le taux de germination des graines de différentes espèces (ZEINALABEDINI *et al.*, 2009 ; FREDJ *et al.*, 2013). Nos résultats indiquent que **le traitement pré-germinatif des semences de luzerne avec du NaCl peut être utile pour réduire le risque de mauvaise germination et permet une croissance plus uniforme des semis** en conditions salines chez la population marocaine étudiée.

■ Effet sur l'indice de vélocité

En milieu non salin (0 mM NaCl), il n'y a pas de différence significative ($P > 0,05$) entre les graines prétraitées et celles non prétraitées (figure 2). En revanche, **l'imbibition préalable des graines avec 200 mM NaCl a significativement** ($P < 0,01$) **accru l'indice de vélocité** des graines avec des valeurs de 13,3 et 14,9 respectivement pour les graines sans et avec traitement pré-germinatif. L'indice de vélocité tient compte du temps et du pourcentage de germination final, et donne une idée sur la vitesse de germination. Des valeurs élevées de cet indice indiquent que l'embryon montre une vitesse de germination plus élevée (FARISSI *et al.*, 2013).

■ Effet sur la longueur de la racicule

La longueur de la racicule a été mesurée pour évaluer le rôle du traitement pré-germinatif dans la croissance de l'embryon et de la plantule vis-à-vis du stress salin (figure 3). Nos résultats indiquent que, en conditions normales, le traitement pré-germinatif a légèrement stimulé la longueur de la racicule comparativement aux semences non traitées. Cependant, **sous stress salin, l'effet du traitement pré-germinatif est significatif** ($P < 0,001$) avec des longueurs d'ordre 1,54 et 2,30 cm pour les racicules issues de graines

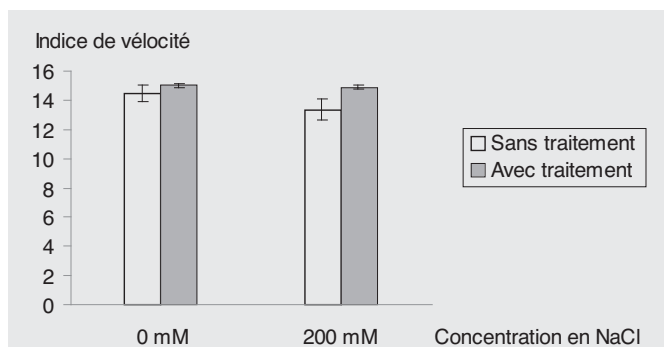


FIGURE 2 : **Indice de vélocité de germination de la population marocaine de luzerne Taf 2 selon la salinité du milieu, avec ou sans traitement pré-germinatif** (moyenne de 3 répétitions de 40 semences chacune).

FIGURE 2 : **Germination velocity in a Moroccan lucerne population (Taf 2) for control and pretreated seeds grown under normal versus saline conditions (0 mM vs. 202 mM)**. The bars represent the means for 3 replicates containing 40 seeds each.

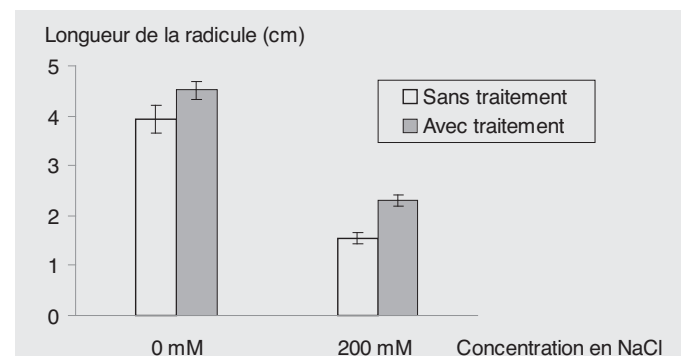


FIGURE 3 : **Longueur de la racicule des semences de la population marocaine de luzerne Taf 2 selon la salinité du milieu, avec ou sans traitement pré-germinatif** (moyennes de 3 répétitions de 40 semences chacune).

FIGURE 3 : **Radicle length in a Moroccan lucerne population (Taf 2) for control and pretreated seeds grown under normal versus saline conditions (0 mM vs 200 mM)**. The bars represent the means for 3 replicates containing 40 seeds each.

non prétraitées et prétraitées respectivement. L'effet du traitement pré-germinatif par NaCl sur la croissance de la racine a été étudié et confirmé par BAJEHBAB (2010) chez le tournesol.

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus, nous avons constaté que le traitement pré-germinatif a amélioré les paramètres de germination étudiés sous conditions de salinité comparativement aux graines maintenues sans aucun traitement pré-germinatif au préalable. En effet, le traitement pré-germinatif a permis d'améliorer significativement le taux de germination des graines, l'indice de vitesse de germination ainsi que la croissance de la racine. Ainsi, cette technique pourrait contribuer à la colonisation des sols affectés par la contrainte de la salinité et bénéficier à l'économie des petites exploitations des agrosystèmes traditionnels rencontrés notamment dans les oasis marocaines où les agriculteurs doivent recourir à l'achat d'eaux d'irrigations non salines pour préserver leurs luzernières des effets néfastes de la salinité.

Accepté pour publication,
le 15 octobre 2016

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAJEHBAB A.A. (2010) : "The effects of NaCl priming on salt tolerance in sunflower germination and seedling grown under salinity conditions", *African J. of Biotechnology*, 9, 1764-1770.
- BELFAKIH M., IBRIZ M., ZOUAHRI A. (2013) : "Effet de la salinité sur les paramètres morpho-physiologiques de deux variétés de bananier (*Musca acuminata* L.)", *J. of applied biosciences*, 70, 5652-5662.
- BOUIZGAREN A. (2007) : *Fiche technique de la culture de la luzerne au Maroc : Technique de production fourragère et semencière*, Publication INRA, Marrakesh, 27 p.
- BOUIZGAREN A., FARISSI M., GHOULAM C., KALLIDA R., FAGHIRE M., BARAKATE M., AL FEDDY M.N. (2011) : "Assessment of summer drought tolerance variability in Mediterranean alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars under Moroccan fields conditions", *Archives of Agronomy and Soil Science*, 59, 147-160.
- FARISSI M., BOUIZGAREN A., FAGHIRE M., BARGAZ A., GHOULAM C. (2011) : "Agro-physiological responses of Moroccan Alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations to salt stress during germination and early seedling stages", *Seed Science and Technology J.*, 39, 389-401.
- FARISSI M., GHOULAM C., BOUIZGAREN A. (2013) : "Variabilité de la tolérance à la salinité de la luzerne: évaluation au stade germination de populations issues de différents agro-écosystèmes marocains", *Fourrages*, 216, 329-332.
- FARISSI M., GHOULAM C., BOUIZGAREN A. (2014a) : "Effet de la salinité sur la production et la qualité fourragère chez les populations marocaines luzerne sous condition du champ dans la région de Marrakech (Maroc)", *Fourrages*, 219, 271-275.
- FARISSI M., FAGHIRE M., BOUIZGAREN A., BARGAZ A., MAKOUDI B., GHOULAM C. (2014b) : "Growth, nutrients concentrations and enzymes involved in plants nutrition of alfalfa populations under saline conditions", *J. of Agriculture Science and Technology*, 16, 301-314.

- FREDJ M.B., ZHANI K., HANNACHI C., MEHWACHI T. (2013) : "Effect of NaCl priming on seed germination of four coriander cultivars (*Coriandrum sativum* L.)", *Eurasian J. of Biosciences*, 7, 21-29.
- IBRIZ M., THAMI ALAMI I., ZENASNI L., ALFAIZ C., BENBELLA M. (2004) : "Production des luzernes des régions pré-sahariennes du Maroc en conditions salines", *Fourrages*, 180, 527-540.
- JANATI A. (1990) : "Les cultures fourragères dans les oasis marocaines", *Cahiers Options méditerranéennes*, 11, 163-169.
- KHAN M.A., UNGAR I.A. (1984) : "The effect of salinity, temperature on germination of polymorphic seed and growth of *Atriplex triangularis* Willd", *American J. of Botany*, 71, 481-489.
- LATRACH L., FARISSI M., MOURADI M., MAKOUDI B., BOUIZGAREN A., GHOULAM C. (2014) : "Growth and nodulation in alfalfa- rhizobia symbiosis under salinity: effect on electrolyte leakage, stomatal conductance and chlorophyll fluorescence", *Turkish J. of Agriculture and Forestry*, 38, 320-326.
- MEZNI M., BIZID E., HARNZA M. (1999) : "Effets de la salinité des eaux d'irrigation sur la survie et la croissance de trois cultivars de luzerne pérenne", *Fourrages*, 158, 169-178.
- NEDJIMI B., AKAM A., BELADEL B., DAOUY Y., GUIT B., TOUMI M. (2013) : "*Atriplex halimus* subsp. *schweinfurthii* (Chenopodiaceae) : Description, écologie et utilisations pastorales et thérapeutiques", *Fourrages*, 216, 333-338.
- ZEINALABEDINI M., MAJOURHAT K., KHAYAM-NEKOUYI M., HERNÁNDEZ J.A., MARTÍNEZ-GÓMEZ P. (2009) : "Breaking seed dormancy in long-term stored seeds from Iranian wild almond species", *Seed Science and Technology*, 37, 267-275.



Association Française pour la Production Fourragère

La revue **Fourrages**

est éditée par l'Association Française pour la Production Fourragère

www.afpf-asso.org



AFPF – Maison Nationale des Eleveurs – 149 rue de Bercy – 75595 Paris Cedex 12
Tel. : +33.(0)1.40.04.52.00 – Mail : secretariat@afpf-asso.fr

Association Française pour la Production Fourragère