

# Variabilité de la tolérance à la salinité de la luzerne : évaluation au stade germination de populations issues de différents agro-écosystèmes marocains

M. Farissi<sup>1,2</sup>, C. Ghoulam<sup>2</sup>, A. Bouizgaren<sup>1</sup>

La salinité limite la productivité des cultures de nombreuses régions irriguées, principalement dans les zones arides et semi-arides. Certaines populations marocaines de luzerne sont-elles plus particulièrement tolérantes à la salinité ?

## RÉSUMÉ

Onze populations locales de luzerne (*Medicago sativa* L.) ont été soumises à un stress salin lors de leur germination. La concentration de la solution utilisée pour arroser les boîtes de germination était de 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 ou 350 mM NaCl. L'augmentation de la concentration en NaCl a engendré une réduction significative du taux de germination des semences. Il existe une forte variabilité de ce taux entre les origines géographiques et pour une même origine géographique. Deux des populations (Adis-Tata 1 et Adis-Tata 2) ont des taux de germination élevés (respectivement 75 % et 65 %) à une concentration de 250 mM NaCl.

## SUMMARY

**Variability of salt tolerance in alfalfa: Evaluation at germination stage of populations from different Moroccan agroecosystems**

High levels of salt hinder the productivity of irrigated crops in a large number of regions, mainly in arid and semi-arid areas. In order to find out whether certain local populations of alfalfa (*Medicago sativa* L.) show a higher tolerance to salt, a trial was carried out which consisted in exposing 11 local populations to high salt stress. Water used to irrigate the germinating seeds was tested at different salt concentrations: 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 and 350 mM NaCl. High NaCl levels significantly reduced the germination rate of seeds. This effect was highly variable among plants from different geographical areas, but also among plants from the same geographical area. Two populations showed a high germination rate at a concentration of 250 mM NaCl.

**A**u Maroc, le problème de la salinité des sols et des eaux d'irrigation est l'une des principales contraintes limitant la productivité agricole ; la luzerne irriguée est particulièrement concernée, essentiellement dans les régions côtières, les régions arides et semi-arides et les oasis sahariennes. Environ 25 % des terres irriguées (HASSANI *et al.*, 2008) seraient concernées par ce problème de salinité excessive des sols et des eaux d'irrigation qui entraîne des faibles pourcentages de germination et de levée, ainsi que des baisses de rendement. A moyen terme, dans les oasis, la salinité provoque l'abandon de parcelles et l'accentuation de la désertification. Pour pallier ce problème, la **sélection**

**de cultivars de luzerne tolérants à la salinité** resterait la voie la plus efficace pour valoriser cette culture dans les terres salines. Ces cultivars pourraient être obtenus **par l'exploitation de la biodiversité existante au sein des ressources génétiques des populations locales** de luzerne. Une telle amélioration de ces populations pour la tolérance à la salinité pourrait renforcer également leur maintien *in situ* et leur utilisation par les agriculteurs et, par conséquent, consolider leur conservation.

La tolérance de la luzerne à la salinité s'exprime à différents stades de croissance : stade germination, jeune plantule et stade plante (FARISSI *et al.*, 2011 et 2013). Cependant, **le stade germination reste le stade clé** et

## AUTEURS

1 : Laboratoire d'Amélioration Génétique des Plantes, UR Amélioration des Plantes & Qualité, Institut National de la Recherche Agronomique, BP 533, Marrakech 40000 (Maroc) ; farissimohamed@gmail.com

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

**MOTS CLÉS** : Facteur édaphique, facteur limitant, luzerne, Maroc, population de pays, population naturelle, ressources génétiques, semis, stress salin, variabilité intraspécifique.

**KEY-WORDS** : Alfalfa, edaphic factor, genetic resources, intraspecific variability, landraces, limiting factor, *Medicago sativa*, Morocco, natural population, salt stress, seeding.

**RÉFÉRENCE DE L'ARTICLE** : 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.

détermine si la plante pourra s'établir en milieu salin (UNGAR, 1991). C'est pourquoi, ce travail compare la tolérance à la salinité au stade germination de quelques populations de luzerne de différentes origines géographiques.

## 1. Matériel et méthodes

### ■ Matériel végétal

Cette étude a concerné **11 populations marocaines de luzerne** (*Medicago sativa* L.) et **une variété améliorée témoin** (Siriver). Ces populations sont originaires des régions montagneuses et des oasis marocaines où elles sont cultivées sans doute depuis plusieurs siècles dans les agro-systèmes traditionnels. Ces populations ont évolué selon un processus complexe où interviennent notamment la sélection naturelle et humaine et les flux géniques intra-spécifiques engendrant, au cours de centaines d'années, une variabilité génétique très importante (FARISSI et al., 2011). Par conséquent, ce matériel génétique local renferme des caractéristiques morphologiques distinctives par rapport aux autres variétés de luzerne. Les semences ont été fournies par l'Institut National de la Recherche Agronomique de Marrakech. Les populations utilisées et leurs origines sont présentées dans le tableau 1.

### ■ Protocole expérimental

Après avoir subi un triage, afin que leurs tailles soient homogènes et afin d'éliminer celles dont l'embryon a été endommagé au cours du battage des gousses, les semences ont été désinfectées par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium à 3 % pendant 4 minutes. Ensuite, elles ont été rincées plusieurs fois à l'eau distillée stérile et **mises à germer dans des boîtes de Pétri** (9 cm de diamètre) sur deux couches de papier Whatman imbibé par de l'eau distillée ou par une solution saline. Les **concentrations de NaCl** utilisées sont : 0 (témoin), 50, 100, 150, 200, 250, 300 et 350 mM avec trois répétitions pour chaque traitement et à raison de 40 graines par boîte. La germination a été effectuée dans une étuve à l'obscurité et à  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 10 jours avec un comptage journalier des graines germées.

### ■ Evaluation du taux de germination

L'évaluation de la tolérance au sel de ces populations de luzerne a porté sur le pourcentage de germination total. Une graine a été considérée comme germée lorsque la radicule est visiblement sortie de l'enveloppe de la graine et mesure au moins 2 mm (KIM et al., 2006). Le pourcentage de germination est déterminé par la formule suivante (GHOULAM et FARES, 2001 ; FARISSI et al., 2011) :

Germination (%) =  $(N_x / N_i) \times 100$ , avec  $N_x$ , le nombre de semences germées au temps x, et  $N_i$ , le nombre de semences mises à germer.

Population	Origine
Adis-Tata 1, Adis-Tata 2, Adis-Tata 3, Tissante 1 et Tissante 2	Oasis de Tata (Maroc)
Demnate 1, Demnate 2 et Demnate 4	Montagne (Maroc)
Rissani 1, Tafilalet 3 et Tafilalet 4	Vallée de Ziz (Maroc)
Siriver (témoin)	Australie

TABLEAU 1 : Les populations de luzerne étudiées et leur origine.

TABLE 1 : Studied populations of alfalfa and geographical areas of origin.

### ■ Analyses statistiques

Les analyses statistiques (test ANOVA II, test t de Student, test de Student-Newman-Keuls et Analyse Factorielle Discriminante) ont été effectuées en utilisant le logiciel SPSS (10.0).

## 2. Résultats et discussion

### ■ Effet des différentes concentrations de NaCl sur le taux de germination

La germination des populations étudiées est affectée par l'augmentation des concentrations de NaCl (tableau 2). La comparaison des différentes moyennes deux à deux (test t) a révélé des différences significatives entre les concentrations proches ( $P < 0,001$ ). L'influence de la salinité sur le pouvoir germinatif des graines de la luzerne s'est manifestée par la **réduction du taux de germination** par rapport aux témoins respectifs (0 mM de NaCl). Cette réduction est d'autant plus importante que la concentration en sel est élevée (tableau 2).

Cependant, cette réduction **diffère selon les populations étudiées**. La comparaison de l'effet de la salinité sur la germination des semences des différentes populations a été réalisée à l'aide de l'ANOVA à double entrée (tableau 3a) qui montre une différence très hautement significative entre les populations étudiées pour toutes les concentrations utilisées. **La germination** des semences des différentes populations **est peu affectée** aux concentrations en NaCl allant **jusqu'à 100 mM** à l'exception de la population Demnate 2 (58,3 % à 100 mM NaCl). **Certaines populations tolèrent même des concentrations allant jusqu'à 250 mM** (population Adis-Tata 1 et Adis-Tata 2 avec des taux de germination de 75 % et 65,17 % respectivement). Cependant, au-delà de cette concentration, la germination devient de plus en plus difficile. A 350 mM NaCl, la germination est presque totalement inhibée pour toutes les populations sauf les populations Adis-Tata 1 et Adis-Tata 2 (10,8 et 26,7 % respectivement).

Les résultats que nous avons enregistrés sont proches de ceux qui ont été déjà rapportés sur la luzerne marocaine par KASSEM et al. (1985) : la germination des graines de deux luzernes (européenne et marocaine) a commencé à devenir inhibée à partir de 0,5 % (85,62 mM)

Concentration (mM) Population	0	50	100	150	200	250	300	350
Adis-Tata 1	100 a	96,6 bc	96,7 c	92,5 e	78,3 c	75 c	27,5 cd	10,8 a
Adis-Tata 2	98,3 a	95,8 bc	95 c	94,2 e	74,2 c	65,2 c	34,2 d	26,7 b
Adis-Tata 3	100 a	96,6 bc	85 bc	75,8 cde	43,3 ab	35,8 b	21,7 bc	4,2 a
Tissante 1	99,1 a	94,1 bc	75 abc	65,8 bcd	45 ab	20,8 ab	7,5 ab	2,5 a
Tissante 2	100 a	95,8 bc	77,5 abc	65,8 bcd	44,8 ab	23,3 ab	0,2 a	2,5 a
Demnate 1	100 a	94,1 bc	88,3 bc	80,8 de	55,8 b	21,6 ab	12,5 ab	2,5 a
Demnate 2	97,5 a	95,8 bc	58,3 a	39,2 a	25,8 a	16,6 ab	2,5 a	0 a
Demnate 4	99,1 a	97,5 bc	84,1 bc	57,5 abc	35,8 ab	24,2 ab	15 ab	3,3 a
Rissani 1	97,5 a	88,3 a	71,6 ab	50,8 ab	23,3 a	15 ab	3,3 a	0,8 a
Tafilalet 3	97,5 a	90 ab	75 abc	60,8 abcd	43,3 ab	22,5 ab	10,8 ab	2,5 a
Tafilalet 4	100 a	98,3 bc	77,5 abc	60,8 abcd	23,3 a	8,3 a	3,3 a	1,7 a
Siriver	95,8 a	82,5 a	70 ab	56,7 abc	43,3 ab	10,8 ab	0 a	0 a

Dans une même colonne, différences significatives (test de Student-Newman-Keuls,  $P > 0,05$ ) si les lettres sont différentes

TABLEAU 2 : Effet de différentes concentrations de NaCl sur le taux de germination (%) des semences de 11 populations marocaines de luzerne et 1 variété australienne (moyennes de 3 répétitions de 40 graines).

TABLE 2 : Effect of different NaCl levels on the germination rate of seeds (%) from 11 Moroccan populations of alfalfa and 1 Australian variety (average of 3 repetitions x 40 seeds).

et totalement inhibée à 1,4 % (240 mM) de NaCl pour la première, et à partir de 0,9 % (154,12 mM) et totalement inhibée à 2 % (342,46 mM) de NaCl pour la seconde.

Comparativement aux autres études concernant l'effet du traitement salin sur la germination des semences de luzerne (WANG *et al.*, 2009) et d'autres plantes telles que le navet (AL-THABET *et al.*, 2004), la pastèque (ASKRI *et al.*, 2007), le *Diptotaxis* (TLIG *et al.*, 2007) et le mil (RADHOUANE, 2008), certaines populations marocaines de la luzerne ont montré une tolérance importante à cette contrainte. Dans le même sens, les études menées par NEDJIMI *et al.* (2013) et LAPEYRONIE (1982) sur l'halophyte **Atriplex et la luzerne ont permis de constater un haut niveau de tolérance au sel au stade germination.** LAPEYRONIE (1982) a mentionné

que cette tolérance constitue un atout intéressant pour l'implantation de ces plantes en périmètres irrigués des zones arides confrontées à la salinité.

La tolérance au sel au cours de la germination est une réponse directe de l'embryon à ses conditions nutritionnelles. Elle est directement liée à une sélectivité efficace du plasmalemme (membrane cellulaire) à l'égard de l'ion sodium. Cette sélection au stade embryonnaire est associée à une accumulation de calcium par la graine lors de la phase de maturation (GUERRIER, 1983).

## ■ Effet de l'origine géographique des populations sur la tolérance au stress salin

L'origine géographique des populations étudiées a un effet sur leur tolérance au stress salin au stade germination. En effet, l'ANOVA a révélé des **différences significatives** de l'effet de l'origine sur le taux de germination au niveau de toutes les concentrations du NaCl testées, à l'exception de la concentration de 350 mM (tableau 3b). Ce résultat peut être expliqué par la **grande diversité des agro-écosystèmes traditionnels des oasis et de montagne** et par l'adaptation des populations aux conditions pédoclimatiques de leur écosystème d'origine.

L'Analyse Factorielle Discriminante (AFD) a montré une nette répartition des populations étudiées selon leur origine géographique (figure 1). Cette répartition a été établie sur la base des taux de germination des différentes populations obtenus à toutes les concentrations NaCl testées.

## ■ Effet de la population sur la tolérance au stress salin

Le comportement variable des populations de luzerne au sein de la même origine géographique vis-à-vis du NaCl peut être **expliqué par les pratiques culturelles et la sélection naturelle et humaine** qui s'exercent sur chaque population. En effet, ces populations sont propres aux agriculteurs qui les maintiennent en produisant leurs propres semences. Par conséquent, chaque population est adaptée au cours des générations aux conditions spécifiques de l'exploitation où elle est maintenue.

Variable	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
<b>a) Effet de différentes concentrations</b>				
0 mM	11	20,07	16,51	***
50 mM	11	71,97	5,38	***
100 mM	11	358,12	5,60	***
150 mM	11	809,64	10,77	***
200 mM	11	948,21	12,32	***
250 mM	11	1 305,79	15,06	***
300 mM	11	351,64	9,55	***
350 mM	11	166,33	5,50	***
<b>b) Effet de différentes origines géographiques</b>				
0 mM	3	65,37	38,818	***
50 mM	3	167,59	8,796	***
100 mM	3	489,98	3,917	*
150 mM	3	1 760,91	10,382	**
200 mM	3	1 623,26	7,013	***
250 mM	3	2 174,31	7,013	***
300 mM	3	506,481	5,015	**
350 mM	3	180,637	2,872	NS

\*\*\* : très hautement significatif ( $P < 0,001$ ), \*\* : hautement significatif ( $P < 0,01$ ), \* : significatif ( $P < 0,05$ ), NS : non significatif

TABLEAU 3 : Analyse de la variance (ANOVA) de l'effet a) de différentes concentrations de NaCl (toutes origines confondues) et b) de différentes origines, sur le taux de germination des populations.

TABLE 3 : Analysis of variance (ANOVA) of the effect on the germination rate of populations a) at different NaCl levels (for all plants) and b) based on different geographical areas of origin.

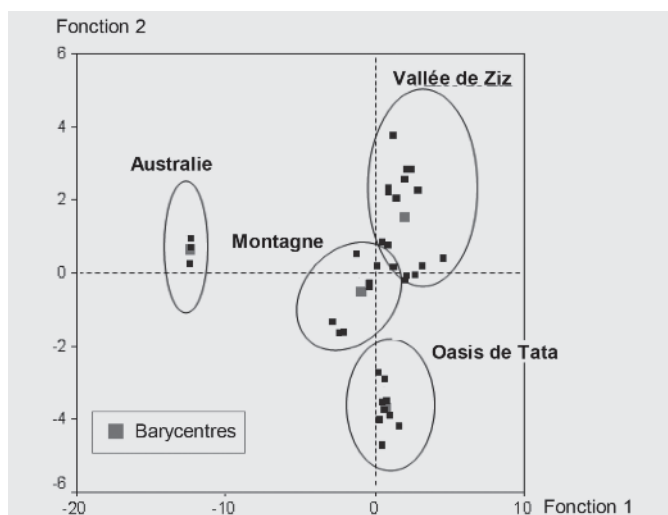


FIGURE 1 : Répartition des populations selon l'origine géographique sur le plan 1-2 de l'AFD en fonction de leur tolérance au stress salin au stade germination.

FIGURE 1 : Distribution of populations based on geographical areas of origin (planes 1 and 2 of FDA) and tolerance to salt stress at germination stage.

La plus grande variabilité a été observée entre les populations originaires de la "Vallée de Ziz", sans doute parce que ces populations ont été sélectionnées selon un gradient de stress salin qui s'étale de l'amont à l'aval de la vallée.

L'analyse de la variance effectuée sur les populations de chaque origine (tableau 4) a montré que la différence entre ces populations pour le taux de germination n'est **pas significative pour les faibles concentrations** (0 et 50 mM pour les origines Vallée de Ziz et Oasis de Tata, moins de 150 mM pour l'origine Montagne).

## Conclusion

Ce travail a mis en évidence l'effet dépressif de la contrainte saline sur la germination des semences de luzerne par la réduction du taux de germination des semences. Une grande variabilité vis-à-vis de la tolérance au sel a été notée. Cette tolérance a été associée à l'origine de la population. La tolérance montrée par certaines populations (Adis-Tata 1 et Adis-Tata 2) sous des seuils élevés en NaCl (250 mM) constitue un atout intéressant qui peut être utilisé aussi bien pour améliorer la tolérance de la luzerne au stress salin que pour limiter l'ampleur prise par la salinisation des sols et des eaux dans les écosystèmes touchés par cette contrainte.

Accepté pour publication, le 25 mars 2013.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AL-THABET, S.S., LEILAH A.A., AL-HAWASS I. (2004) : "Effect of NaCl and Incubation Temperature on Seed Germination of Three Canola (*Brassica napus* L.) cultivars", *Scientific J. of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, 5, 81-92.
- ASKRI H., REJEB S., JEBARI H., NAHDI H. REJEB M. N. (2007) : "Effet du chlorure de sodium sur la germination des graines de trois variétés de pastèque (*Citrullus lanatus* L.)", *Sécheresse*, 18, 51-5.

	Vallée de Ziz		Montagne		Oasis de Tata	
	ddl	P (α=5 %)	ddl	P (α=5 %)	ddl	P (α=5 %)
0 mM	4	NS	2	NS	2	NS
50 mM	4	NS	2	NS	2	NS
100 mM	4	*	2	NS	2	*
150 mM	4	*	2	*	2	NS
200 mM	4	**	2	**	2	NS
250 mM	4	**	2	NS	2	NS
300 mM	4	*	2	NS	2	**
350 mM	4	*	2	NS	2	*

\*\*\* : très hautement significatif (P < 0,001), \*\* : hautement significatif (P < 0,01), \* : significatif (P < 0,05), NS : non significatif

TABLEAU 4 : Analyse de la variance (ANOVA) de l'effet intra-origine géographique sur le taux de germination des populations de luzerne.

TABLE 4 : Analysis of variance (ANOVA) of the effect on the germination rate of alfalfa among populations of the same geographical origin.

- 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 Sci. and Technology*, 39, 389-401.
- FARISSI M., GHOULAM C., BOUIZGAREN A. (2013) : "Changes in water deficit saturation and photosynthetic pigments of Alfalfa populations under salinity and assessment of proline role in salt tolerance", *Agric. Sci. Res. J.*, 3, 29-35.
- GHOULAM C., FARES K. (2001) : "Effet of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.)", *Seed Sci. and Technology*, 29, 364-377.
- GUERRIER G. (1983) : "Capacité germinative des semences en fonction des doses graduelles en NaCl. Importance des transferts sur milieux sodés ou témoins", *Can. J. of Botany*, 62, 1791-1798.
- HASSANI A., DELLAL A., BELKHODJA M., KAID-HARCHE M. (2008) : "Effet de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.)", *Europ. J. of Sci. Res.*, 23, 61-69.
- KASSEM M., CAPELLANO A., GOUNOT A.M. (1985) : "Effets de chlorure de sodium sur la croissance *in vitro*, l'ineffectivité et l'efficacité de *Rhizobium meliloti*", *World J. of Microbiology and Biotechnology*, 1, 63-75.
- KIM H.J., FENG H., KUSHAD M.M., FAN X. (2006) : "Effect of ultrasound irradiation and acidic electrolyzed water on germination of alfalfa and broccoli seeds and *Escherichia coli* O157:H7", *J. Food Sci.*, 71, 168-173.
- LAPEYRONIE A. (1982) : *Les productions fourragères méditerranéennes. Techniques agricoles et productions méditerranéennes*, éd. G.P. Maisonneuve & Larose (Paris), 425 p.
- NEDJIMI B., GUIT B., TOUMI M., BELADEL B., AKAM A., DAOUD Y. (2013) : "*Atriplex halimus* subsp. *schweinfurthii* (Chenopodiaceae): Description, écologie et utilisations pastorales et thérapeutiques", *Fourrages*, 216, 333-338.
- RADHOUANE L. (2008) : "Salinity effect on germination, growth, and grain production of some autochthonous pear millet ecotypes (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.)", *Acad. des Sci.*, 331, 206-214.
- TLIG T., GORAI M., NEFFATI M. (2007) : "Germination responses of *Diplotaxis harra* to temperature and salinity", *Flora*, 203, 421-428.
- UNGAR I.A. (1991) : *Ecophysiology of vascular halophytes*, "Chap. II - Seed germination", Boca Raton : CRC Press, 209 pp, 9-48.
- WANG W.B., KIM Y.H., LEE H.S., KIM K.Y., DENG, X.P., KWAK S.S. (2009) : "Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses", *Plant Physiology and Biochemistry*, 4, 570-577.





Association Française pour la Production Fourragère

---

La revue *Fourrages*

est éditée par l'Association Française pour la Production Fourragère

**[www.afpf-asso.org](http://www.afpf-asso.org)**



AFPF – Centre Inra – Bât 9 – RD 10 – 78026 Versailles Cedex – France

Tél. : +33.01.30.21.99.59 – Fax : +33.01.30.83.34.49 – Mail : [afpf.versailles@gmail.com](mailto:afpf.versailles@gmail.com)

Association Française pour la Production Fourragère