



## Effet du stress salin sur la germination et le développement des plantules de *Vicia faba* L. (Effect of salt stress on germination and seedling of *Vicia faba* L.)

L. Benidire<sup>1\*</sup>, K. Daoui<sup>2</sup>, Z.A. Fatemi<sup>2</sup>, W. Achouak<sup>3</sup>, L. Bouarab<sup>1</sup>, K. Oufdou<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Biology and Biotechnology of Microorganisms, Faculty of Sciences Semlalia, Cadi Ayyad University, PO Box 2390, Marrakech, Morocco

<sup>2</sup> Centre Régional de la Recherche Agronomique de Meknès, INRA, Morocco

<sup>3</sup> CEA, DSV, IBEB, SBVME, Laboratoire d'Ecologie microbienne de la Rhizosphère et des Environnements Extrêmes (LEMIRE), Saint-Paul-lez-Durance, France

Received 17 July 2014; Revised 29 October 2014; Accepted 31 October 2014

\*Corresponding Author. E-mail: [l.benidire@yahoo.com](mailto:l.benidire@yahoo.com)

### Abstract

In arid and semi-arid areas, salinity is one of the main factors responsible for the degradation and reduced productivity of agricultural lands. By their excessive salt concentration, the saline soils constitute an unfavorable environment for the growth of several legume plants. This work aims to compare the germinative behaviour of six varieties of faba bean (*Vicia faba* L.) in salt stress conditions. Seed germination and seedling growth are critical steps of the plant development. Six varieties of faba bean cultivated and marketed in Morocco were tested. The obtained results showed that salinity has a negative impact on the germination and early seedling growth of *V. faba*. The high levels of salinity increase latency time and reduced the germination behaviour, especially at the concentrations of 150 mM and 200 mM. The final germination rate at 200 mM is 7.5 %, 15 %, 17.5 % and 20 % respectively for VITA, Luz De Otno, Reina Mora and Defes, whereas the germination rate is higher for Aguadulce and Alfia 5 (42.5 % and 67.5 % respectively). Salinity can affect germination by two different effects: the first is reversible osmotic effect and the second is irreversible toxic effect. During our study, we show that the faba bean varieties are affected by osmotic and toxic effects except Aguadulce and Alfia 5 which appear to be affected only by osmotic effect. The growth of faba bean seedlings, cultivated *in vitro* during 10 days, is also reduced under salinity exposure. The size and the density of the root hairs are also affected. Moreover, we note a change of anatomical structure of roots, resulting in a decrease in beam xylem cells and a decrease in the number of the cortical parenchyma cells.

**Keywords:** *Vicia faba*, salt stress, germination, legume, root structure.

### Résumé

Dans les zones arides et semi-arides, la salinité est l'un des facteurs majeurs responsables de la détérioration des sols en les rendant impropres à l'agriculture. Par leur concentration excessive en sels, les sols salins constituent un environnement défavorable pour la croissance de la plupart des légumineuses. L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet comparatif de la salinité sur la germination de plusieurs variétés de *Vicia faba* L. La germination constitue une étape primordiale du développement des plantes. Six variétés de fève cultivées et commercialisées au Maroc ont été testées. L'effet de la salinité sur le comportement germinatif de la fève se traduit par une augmentation du temps de latence et une diminution de la vitesse et du taux de germination notamment aux concentrations de 150 mM et 200 mM. A la concentration de 200 mM, le taux de germination final est de 7.5 %, 15 %, 17.5 % and 20 % respectivement pour VITA, Luz De Otno, Reina Mora et Defes. Alors qu'il est plus élevé chez Aguadulce et Alfia 5 qui présentent des taux de germination respectivement de 42.5 % et 67.5 %. La salinité peut se manifester par deux effets au cours de la période de germination. Le premier est osmotique, qui est réversible, et le second est toxique qui est irréversible. Les résultats obtenus montrent que les variétés de fève sont affectées par une dépression osmotique et toxique sauf Aguadulce et Alfia 5 qui paraissent être affectées par un effet osmotique seulement. La salinité réduit le développement des plantules de *V. faba* (variété Alfia 5) développées *in vitro* pendant 10 jours. La taille et la densité des poils absorbants des racines sont fortement affectées par la salinité. Des modifications de la structure anatomique des racines sont aussi notées, et qui se traduisent par une diminution du nombre des cellules par faisceau du xylème et du nombre d'assises du parenchyme cortical.

**Mots clés:** *Vicia faba*, stress salin, germination, légumineuse, structure racinaire.

## 1. Introduction

Les zones arides et semi-arides constituent environ les deux tiers de la surface du globe terrestre [1]. Dans ces zones souvent marquées par des périodes sévères de sécheresse, la salinisation des sols est considérée comme l'un des principaux facteurs limitant le développement des plantes. A l'échelle mondiale, il est estimé que presque 800 millions d'hectares de terres sont affectés par le sel, que ce soit par la salinité (397 millions d'ha) ou par les conditions de sodisation associées aux teneurs en sodium (434 millions ha). En effet, la salinité s'étend sur plus de 6 % de la superficie totale de la planète [2], dont 3.8 % sont situés en Afrique [3]. Ce phénomène devient de plus en plus inquiétant car la salinité réduit la superficie des terres cultivables et menace la sécurité alimentaire dans ces régions. La salinisation des sols est non seulement liée aux conditions climatiques, mais aussi à l'utilisation mal contrôlée des eaux d'irrigation et à leur mauvaise qualité. Au Maroc, la salinisation des sols agricoles commence à prendre de l'ampleur avec l'extension des superficies irriguées, près de 500 000 d'hectares des terres arables sont sujets à une salinisation croissante [4].

La région de Marrakech-Tensift-Al Haouz, comme plusieurs régions au Maroc, est caractérisée par un climat aride à semi-aride avec une pluviométrie faible, ce qui oblige les agriculteurs de recourir à l'irrigation, d'autant plus que la nappe phréatique est d'une qualité souvent médiocre, ce qui peut par conséquent dégrader la qualité des sols agricoles dans des années à venir [5]. Les plantes légumineuses sollicitent toujours un intérêt qui est de plus en plus croissant. En effet, les légumineuses alimentaires occupent une place très importante à l'échelle mondiale et nationale. Les plantes protéagineuses telles que les fèves, les pois, les haricots et les lentilles sont consommées pour leur intérêt nutritionnel. Les graines sont très riches en protéines constituant jusqu'à 30 % par matière sèche des graines [6]. Les légumineuses constituent ainsi un aliment nutritif très important surtout pour les populations à faibles revenus, et qui ne peuvent pas toujours s'approvisionner en protéines d'origine animale. Les plantes à graines oléoprotéagineuses, comme l'arachide et le soja, sont utilisées comme sources d'huile pour l'industrie agro-alimentaire, alors que la luzerne et le lupin par exemple sont largement utilisés comme plantes fourragères pour l'alimentation animale [7]. En agriculture, les légumineuses jouent un rôle important dans l'amélioration de la fertilité du sol en matière d'azote suite à leur association symbiotique avec les rhizobia fixatrices de l'azote atmosphérique. Ils ont aussi la capacité de pousser sur des sols pauvres améliorant ainsi la structure et la fertilité du sol et aident à réintroduire l'agriculture sur ces terres, limitant par conséquent les apports en engrais chimiques qui peuvent polluer les nappes phréatiques et les eaux de surface [2,8]. Au Maroc, pays qui se veut pays agricole et dans les stratégies, les politiques de développement (Maroc vert) se focalisent entre autres par ce secteur qui est demandeur en eau. Dans ces programmes, les légumineuses occupent la deuxième place (396000 ha) après les céréales (500000 ha), en termes de terres cultivées et de production. La fève (*V. faba* L.) occupe entre 40 à 45 % de la superficie totale consacrée aux légumineuses, soit environ 197000 ha [9].

La salinité entraîne un déficit hydrique chez les plantes, dû au stress osmotique éventuellement couplé à des perturbations biochimiques induites par l'afflux d'ions sodium [10,11]. Le franchissement de l'étape de la germination est décisif et crucial dans tout développement et croissance de la plantule. Au cours de la germination, la semence se réhydrate dès qu'elle est placée dans le sol, à condition que la teneur en eau de son environnement soit suffisante. L'imbibition de la graine déclenche ensuite des modifications hormonales, qui vont aboutir à des réactivations enzymatiques permettant le début de mobilisation des réserves [12]. Ces processus aboutissent à la percée de la radicule hors des téguments, la graine est alors germée [13]. Cependant, un bon déroulement des processus menant à la germination dépend de l'environnement proche de la semence, il est fortement influencé par la température, les teneurs en eau et en oxygène et la structure du sol. La germination des graines est généralement l'étape critique dans l'établissement des semis et ainsi la détermination d'une production agricole réussie. En effet, sous contrainte saline, un développement tardif favorise l'accumulation d'ions toxiques pouvant entraîner la mort des plantes avant la fin de leur cycle de développement [14-16]. La tolérance au sel peut donc être évaluée par la précocité de la germination.

La réponse au sel des espèces végétales dépend de plusieurs variables, commençant par l'espèce même, de sa variété, aussi de la concentration en sel, des conditions de culture et du stade de développement de la plante [17,18]. L'identification des variétés et des génotypes tolérants aux sels, capables de minimiser les effets dépressifs de la salinité sur les rendements, permettrait certainement d'améliorer la production agricole des zones touchées par la salinité. En raison de manque d'enquête sur le terrain des effets de la salinité sur la germination de variétés de fève commercialisées au Maroc et dans un optique d'anticipation de ces effets, ce travail se fixe pour objectif d'évaluer l'impact du stress salin sur la germination de six variétés de *V. faba* cultivées et commercialisées au Maroc en suivant plusieurs paramètres liés à la germination suite à l'effet de

l'exposition des graines à différentes concentrations en NaCl. Nous déterminerons aussi l'effet de la salinité sur le développement des plantules de fève et sur leur structure racinaire.

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Effet de la salinité sur le processus de germination de *V. faba* L.

Afin d'évaluer l'effet de la salinité sur le processus de germination de *V. faba*, nous avons utilisé des graines appartenant à 6 variétés dont trois d'origine marocaine (Aguadulce, Defes et Alfia 5) et trois variétés d'origine étrangère commercialisées au Maroc : Reina Mora, Luz De Otno et VITA (Figure 1).



**Figure 1 :** Graines des variétés testées de *V. faba*

Les graines de six variétés (Aguadulce, Defes, Alfia 5, Reina Mora, Luz De Otno et VITA) ont été triées et désinfectées par un lavage avec de l'hypochlorite de sodium (4°) pendant 5 min, puis rincées abondamment à l'eau distillée pour éliminer l'eau de javel ainsi que les produits de conservation ayant adhéré à la graine.

Pour faciliter et homogénéiser leur germination, les graines ont été placées dans de l'eau distillée pendant une nuit. Quatre graines de chaque variété de fève ont été mises à germer dans une boîte de Petri contenant du papier filtre imbibé avec 2 mL d'eau distillée stérile additionnés de différentes concentrations en NaCl (0, 50, 75, 100, 150 et 200 mM). Ensuite, les boîtes de Petri ont été incubées à l'obscurité dans l'étuve à  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Chaque traitement a été répliqué 10 fois (40 graines par traitement) et suivi tous les 24h pendant 4 jours. Une graine a été considérée germée lorsqu'il y a eu émergence de la radicule.

Durant cette expérimentation, plusieurs paramètres ont été étudiés et qui sont:

**Taux de germination final :** est exprimé par le rapport du nombre de graines germées sur le nombre total de graines.

**Germination moyenne journalière (MDG) :** c'est le pourcentage final de germination sur le nombre de jours à la germination finale.

**Vitesse de la germination :** c'est le temps moyen à la germination de 50 % des graines. Elle permet d'exprimer l'énergie de germination responsable de l'épuisement des réserves de la graine.

**Cinétique de la germination :** il s'agit de calculer chaque jour la vitesse de germination sous les différentes concentrations de salinité. Elle est exprimée par le nombre de graines germées à 24, 48, 72 et 96 h après le début de l'expérience. C'est un paramètre qui permet de mieux appréhender la signification écologique du comportement germinatif des variétés étudiées ainsi que l'ensemble des événements qui commencent par l'étape d'absorption de l'eau par la graine et se terminent par l'élongation de l'axe embryonnaire et l'émergence de la radicule.

**Réversibilité de l'effet du NaCl :** c'est un paramètre qui permet de déterminer l'origine de l'effet dépressif (osmotique et/ou toxique). Dans ce cadre, les graines qui n'ayant pas pu germer à la concentration de 200 mM ont été mises dans un nouveau milieu ne contenant que l'eau distillée stérile et ensuite les graines ayant germé ont été comptées pour chaque concentration de salinité.

**Mobilisation des réserves :** c'est un phénomène qui est lié à la réhumidification des graines (disponibilité de l'eau pour la graine). Avec l'imbibition de celles-ci s'instaure un métabolisme actif qui est révélé par une respiration intense et une

synthèse de nouvelles protéines servant à la croissance de la jeune plantule tout en utilisant les réserves de la graine. Ce phénomène débute avec l'intervention d'enzymes dont l'action est déclenchée par des commandes hormonales venant en général de l'embryon [19]. La mobilisation des réserves est estimée indirectement par la mesure de la quantité de matière sèche résiduelle de la graine après 4 jours de germination.

## 2.2. Effet de la salinité sur le développement et la structure racinaire des plantules de *V. faba*

### 2.2.1 Mise en culture des plantes

Dans le but d'évaluer l'effet de la salinité sur le développement racinaire des plantules de *V. faba*, des graines de la variété Alfia 5 ont été désinfectées avec de l'hypochlorite de sodium (4°) pendant 5 min, puis rincées abondamment à l'eau distillée stérile. Ces graines ont été mises à germer à 25°C dans des boîtes de Petri contenant l'agar agar à 0.8 %. Les graines germées ont été mises dans des tubes de 15 cm de longueur et 18 mm de diamètre contenant 10 ml du milieu gélosé à base de la solution nutritive de Rigaud et Puppo [20] additionné de NaCl à des concentrations de 0, 50, 75, 100, 150 et 200 mM. Par la suite, les tubes ont été incubés pendant 10 jours dans une chambre de culture à 25°C.

### 2.2.2 Préparation des coupes histologiques des racines

Après 10 jours de mise en culture, les plantules ont été détachées de la gélose. Leurs parties racinaires ont été récupérées en vue d'effectuer des coupes histologiques et des observations microscopiques. Les coupes minces transversales ont été réalisées en plaçant la racine entre deux morceaux de moelle de sureau coupée longitudinalement puis à l'aide d'une lame de rasoir des coupes fines ont été effectuées. Les coupes histologiques ont été ensuite colorées par la technique de la double coloration au Mirande (coloration par le carmin et le vert d'iode). Après rinçage avec de l'eau distillée des préparations entre lame et lamelle, les coupes histologiques ont été effectuées pour observation et analyse au microscope optique aux grossissements 40, 100 et 400.

### 2.3. Analyses statistiques

Les résultats obtenus correspondent à la moyenne de 10 répétitions. L'analyse de variance (ANOVA) est effectuée par "SPSS for Windows version 10" et la comparaison des moyennes est faite par le test Student-Newman-Keuls au seuil de probabilité de 5 %.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Effet de la salinité sur la germination de *V. faba*

#### 3.1.1. Effet de la salinité sur la cinétique et le taux de germination final

Les résultats obtenus montrent que les taux de germination des graines diminuent au fur et à mesure que la dose de NaCl augmente (Figure 2). Nous notons un ralentissement du processus de germination en fonction de l'augmentation de la salinité. La germination des graines est aussi précédée par un long temps de latence à partir de 100 mM en NaCl. Ce temps est plus long pour les concentrations de 150 mM et 200 mM en NaCl.

A la concentration de 200 mM, la cinétique de germination des variétés étudiées devient plus lente et le taux de germination final est plus faible sauf chez les deux variétés Alfia 5 et Aguadulce chez lesquelles la capacité germinative reste notable et plus élevée par rapport aux autres variétés testées (Figure 2).

Globalement l'ensemble des graines testées ont germé avec un taux supérieur à 70 % pour les doses de 50 et 75 mM en NaCl pour toutes les variétés testées. Cependant à partir de la concentration de 100 mM, ce taux est inférieur à 67.5 % pour les variétés VITA et Defes, alors que pour les variétés Alfia 5, Aguadulce, Luz de Otno et Reina Mora, le taux de germination dépasse encore 70 %.

Bien que le taux final de germination soit retardé sous l'effet stressant de la salinité, il dépasse 95 % chez toutes les variétés, excepté chez Defes, aux concentrations de 0 et 50 mM en NaCl. Toutefois, nous notons une réduction de pourcentage final de germination respectivement de 10 %, 13 %, 13 % et 20 % chez les variétés Aguadulce, Alfia 5, Reina Mora et Luz De Otno à une concentration de 100 mM de NaCl. Tandis que cette réduction est de 33 % et 38 % respectivement chez VITA et Defes.

La concentration de 200 mM fait diminuer considérablement la capacité germinative des variétés étudiées. Le taux de germination final est de 7.5 %, 15 %, 17.5 % et 20 % respectivement pour VITA, Luz De Otno, Reina Mora et Defes. Alors qu'il est plus élevé chez Aguadulce et Alfia 5 qui présentent des taux de germination significativement plus élevés ( $p < 0.05$ ) respectivement de 42.5 % et 67.5 % (Figure 3).

Ces résultats viennent confirmer les effets relevés, à travers des études antérieures, exercés par la salinité sur le processus de germination chez plusieurs espèces de légumineuses. Okçu et al. [21] ont démontré que l'application de différents niveaux de NaCl induit une réduction significative du taux de germination final chez les cultivars de petit pois. Des résultats comparables ont été observés chez différentes variétés de haricot [22-24], de pois chiche [25], de lentille [26] et d'autres légumineuses fourragères [27,28].

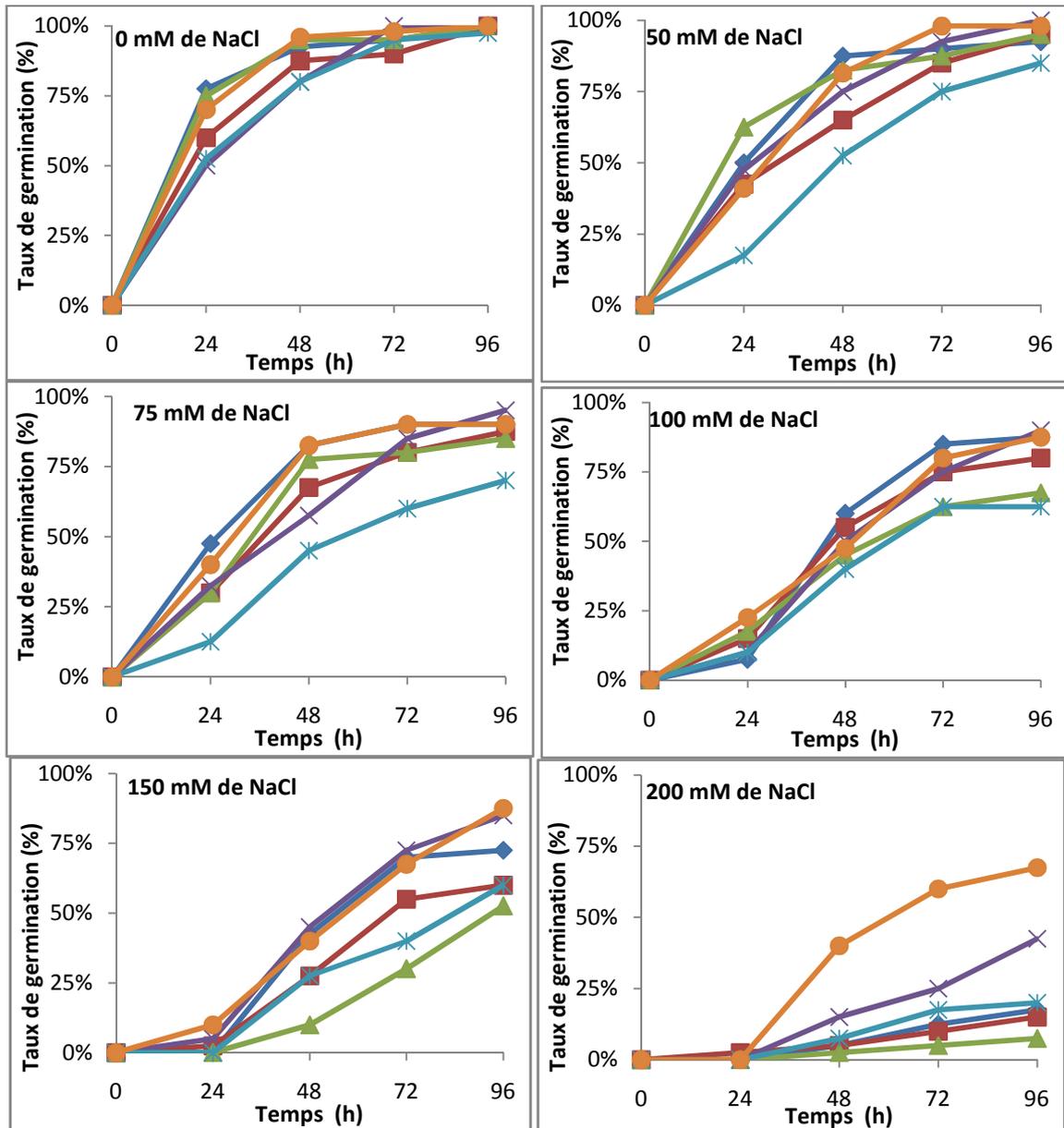


Figure 2 : Cinétique de la germination des six variétés de fève étudiées en présence de différentes concentrations en NaCl. (♦) Reina Mora, (■) Luz de Otno, (▲) VITA, (×) Aguadulce, (✱) Defes, (●) Alfia5.

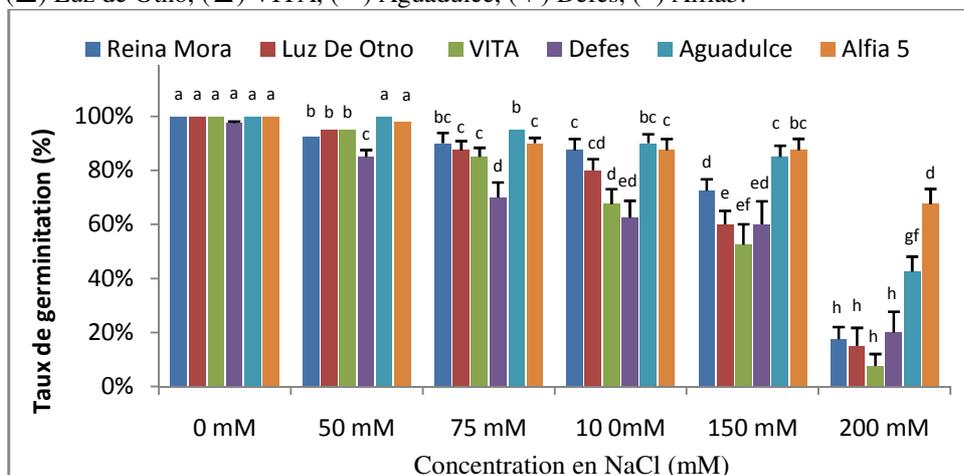


Figure 3 : Taux de germination final chez les graines des six variétés de fève soumises à différentes concentrations en NaCl (les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes:  $p < 0.05$ ).

L'effet de NaCl sur le comportement germinatif de fève se traduit par une augmentation du temps de latence et une diminution de la vitesse et du taux de germination. Ceci corrobore les résultats de l'étude de Amouri et Fyad Lameche [29] portée sur six écotypes d'espèces annuelles de *Medicago* et qui ont noté un ralentissement du processus de germination en fonction du stress salin et de l'écotype de chaque espèce.

L'étude de la cinétique de germination montre qu'une concentration croissante en sel engendre un retard de la germination. D'après Ben Miled et al. [30], ce retard peut être expliqué par le temps nécessaire à la graine pour mettre en place des mécanismes lui permettant d'ajuster sa pression osmotique interne. Alors que Ghrib et al. [31] ont expliqué que ce retard pourrait être dû à l'altération des enzymes et des hormones qui se trouvent dans la graine.

### 3.1.2. Effet de la salinité sur le taux de germination journalière et le temps moyen de germination (t50) des graines

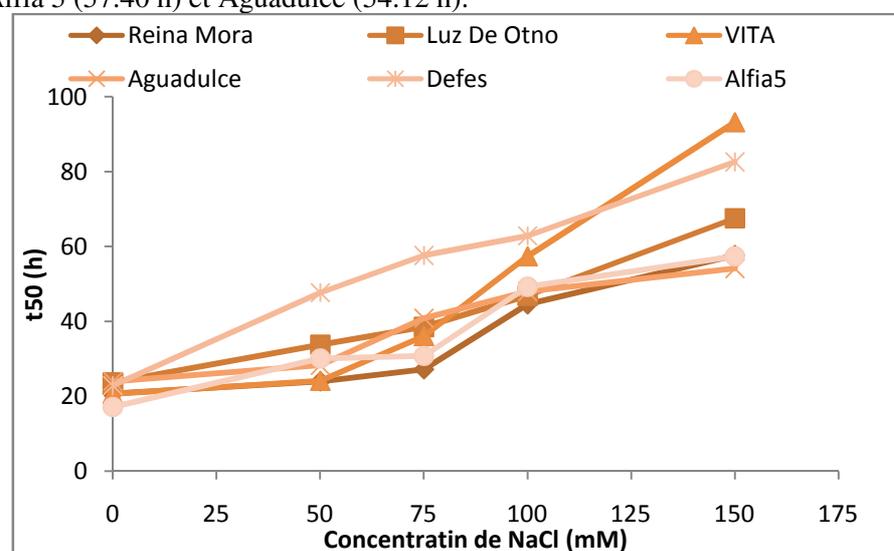
Les résultats présentés sur le tableau 1 correspondent aux valeurs moyennes des taux de germination cumulés des essais durant 4 jours pour les graines des six variétés de fève soumises à différentes concentrations en NaCl. Les taux moyens de germination journalière diminuent significativement avec l'augmentation de la concentration en NaCl. Au traitement de 200 mM, les valeurs significativement les plus élevées des taux de germination journalière sont enregistrées pour les variétés Alfia 5 et Aguadulce (16.9 % et 10.6 % respectivement). Les variétés VITA, Luz de Otno, Reina Mora et Defes présentent les taux de germination journalière les plus faibles (respectivement de 1.9 %, 3.8 %, 4.4 % et 5 %).

**Tableau 1 :** Variation du taux de germination journalière moyenne des six variétés de fève en fonction de la concentration en NaCl.

Variété	Concentration en NaCl (mM)					
	0 mM	50 mM	75 mM	100 mM	150 mM	200 mM
Reina Mora	25.0 ± 0.0 a	23.1 ± 1.0 a	22.5 ± 1.0 a	21.9 ± 1.0 a	18.1 ± 1.1 ab	4.4 ± 1.9 c
Luz De Otno	25.0 ± 0.0 a	23.8 ± 0.8 a	21.9 ± 1.0 ab	20.0 ± 1.3 ab	15.0 ± 1.7 b	3.8 ± 1.4 c
VITA	25.0 ± 0.0 a	23.8 ± 0.9 a	21.3 ± 1.4 ab	16.9 ± 1.9 b	13.1 ± 1.1 b	1.9 ± 1.3 c
Defes	24.4 ± 0.6 a	21.3 ± 1.4 b	17.5 ± 1.6 b	15.6 ± 2.1 b	15.0 ± 1.9 b	5.0 ± 1.3 c
Aguadulce	25.0 ± 0.0 a	25.0 ± 0.0 a	23.8 ± 1.8 a	22.5 ± 1.0 a	21.3 ± 1.4 a	10.6 ± 2.3 b
Alfia 5	25.0 ± 0.0 a	24.5 ± 0.5 a	22.5 ± 1.0 a	21.9 ± 1.0 a	21.9 ± 1.4 a	16.9 ± 1.6 a

Les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0.05$ ).

Le temps moyen de germination (TMG) correspond à la germination de 50 % du lot de graines (Figure 4). En présence des différentes concentrations en NaCl, ce temps varie entre 17 h et 24 h dans le lot témoin, mais il augmente en fonction de la dose du sel appliquée. En présence de 150 mM de NaCl, le TMG est de 90h pour les graines de Defes et VITA et 67.53 h pour Luz De Otno, alors qu'il ne dépasse pas 60 h pour les variétés Reina Mora (57.40 h), Alfia 5 (57.40 h) et Aguadulce (54.12 h).

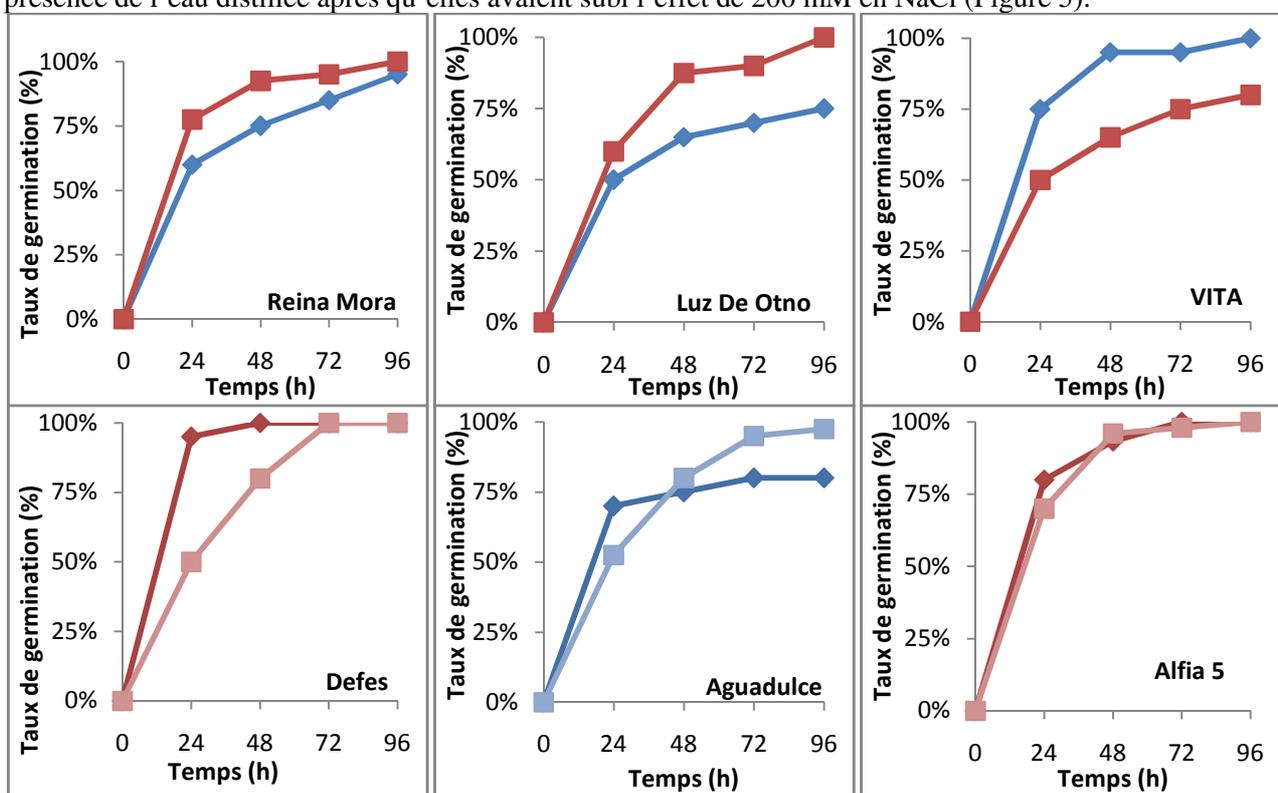


**Figure 4:** Effets de la salinité sur le temps moyen de germination des graines des six variétés étudiées de fève.

Nos résultats sont comparables à ceux rapportés par d'autres auteurs ayant travaillé sur d'autres légumineuses. En effet, ils ont affirmé que le stress salin augmente le temps moyen de germination. Les travaux de Bayuelo-Jiménez et al. [32] sur *Phaseolus* et ceux d'Okçu et al. [21] sur des cultivars de petits pois, ont démontré que le temps moyen de germination des graines a augmenté avec l'ajout de NaCl et cette augmentation a été d'autant plus importante que la concentration en sel est élevée. Cependant, Cokkizgin [24] a trouvé que tous les paramètres de germination examinés chez le haricot diminuent significativement avec l'augmentation de la concentration en NaCl sauf le temps moyen de germination qui reste comparable à celui du témoin. La présence du chlorure de sodium se répercute négativement sur les moyennes de germination journalière des différents génotypes de petit pois [25]. La variation des capacités germinatives associées au temps moyen et au taux moyen de germination des graines permettent de bien discriminer les espèces quant à leur tolérance et (ou) sensibilité au sel au cours de la germination [31].

### 3.1.3 Réversibilité de l'effet du NaCl :

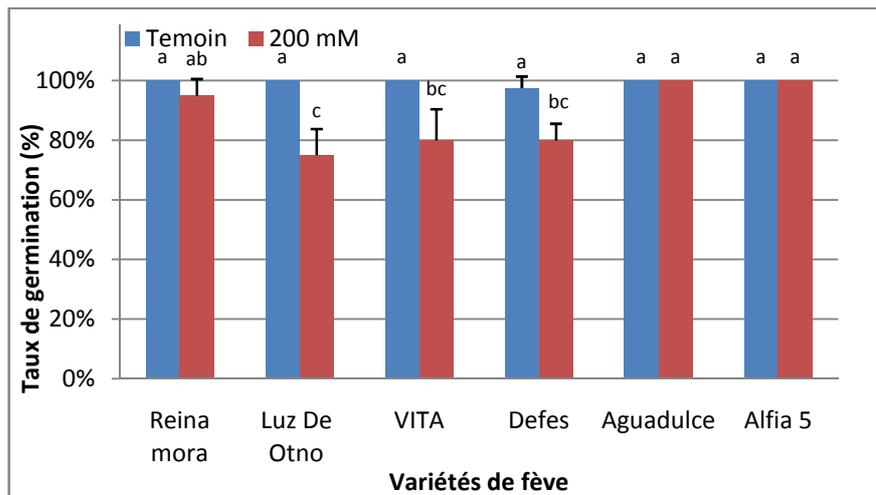
Le test de réversibilité de l'effet du NaCl a été étudié à la concentration de 200 mM (Figure 5). Ces résultats montrent que le transfert des graines dans de l'eau distillée est suivi d'une reprise de la germination. Cette reprise est plus faible chez des graines des trois variétés d'origine étrangère, alors qu'elle est plus rapide chez les variétés marocaines. Seules les variétés Aguadulce et Alfia 5 qui ont rétabli 100 % de la germination des graines en présence de l'eau distillée après qu'elles avaient subi l'effet de 200 mM en NaCl (Figure 5).



**Figure 5 :** Dynamique de la germination des six variétés de fève étudiées mises à germer sur milieu non salé, après un prétraitement avec une solution de NaCl de 200 mM (courbe continue : ◆), en comparaison avec la cinétique de la germination des graines mises directement sur milieu témoin non salé (courbe en pointillés: ▲).

Comparée au témoin non traité par le NaCl, la réversibilité de la germination des graines traitées au préalable par NaCl varie selon les variétés de fève (Figure 6). En effet, si la capacité germinative des variétés Aguadulce, Alfia 5 et Reina Mora, reste comparable à celle du témoin, au contraire celle des variétés Luz De Otno, VITA et Defes est significativement différente du témoin. Ces dernières variétés, une fois remises dans l'eau, ont effectivement montré un taux de germination inférieur à 80 % au bout de 4 jours.

La salinité peut se manifester par deux effets : osmotique qui est réversible et/ou toxique qui est irréversible. La présence de doses élevées en NaCl entraîne la diminution du potentiel osmotique du milieu, cela peut retarder ou empêcher l'absorption de l'eau nécessaire pour la germination [33]. Aussi une forte concentration en chlorure de sodium peut entraîner l'accumulation des ions de Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> dans l'embryon, et contribue ainsi à l'altération des processus métaboliques de la germination voir même à la mort de l'embryon par excès d'ions [25].



**Figure 6** : Effet de la réversibilité de l'effet de NaCl sur le taux de germination final chez les graines des six variétés de fève après le prétraitement des graines par 200 mM de NaCl (graines germées dans un milieu non salé) en comparaison avec le milieu témoin (graines germées dans un milieu contenant de l'eau distillée sans prétraitement salin) (les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes:  $p < 0.05$ ).

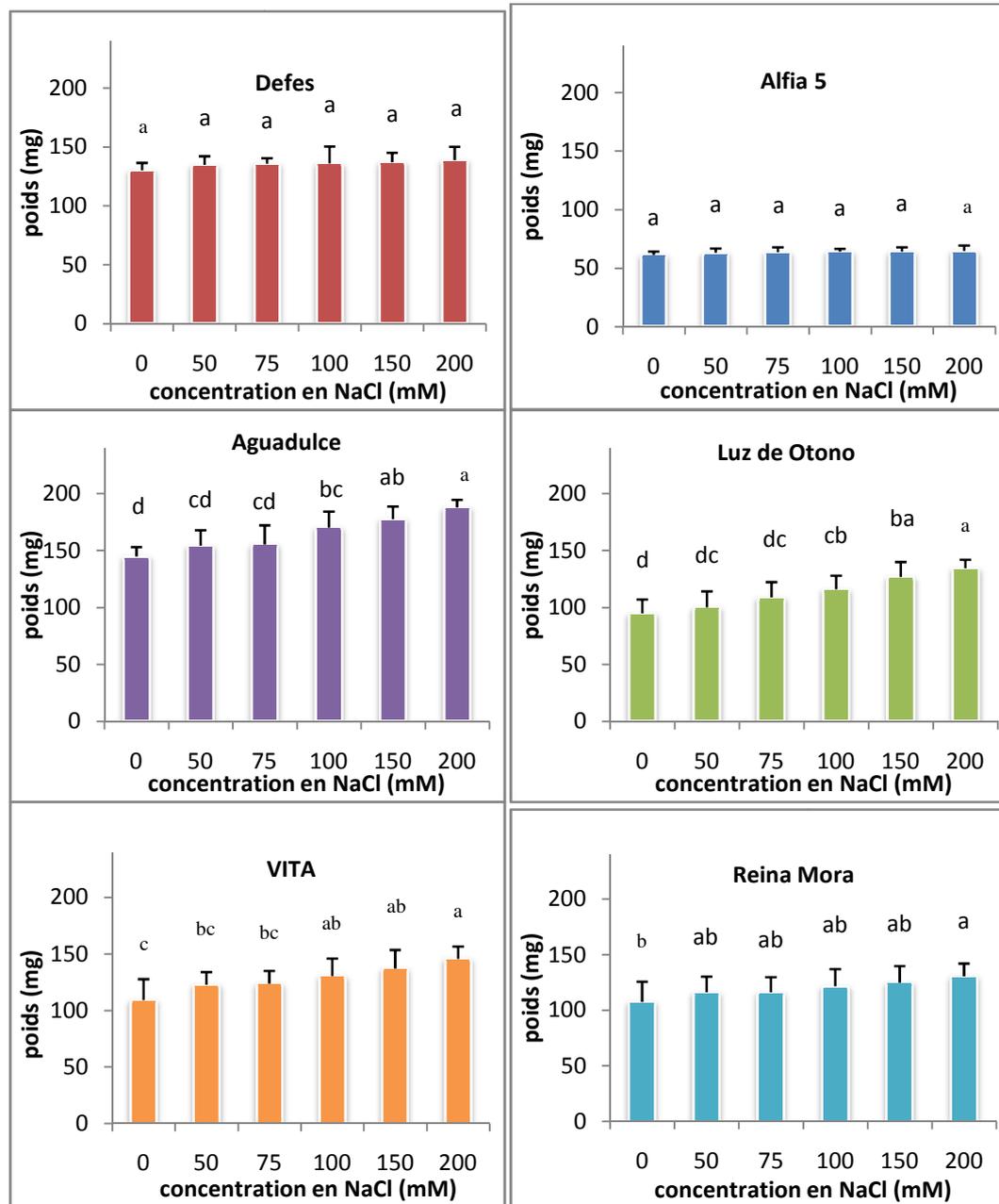
La réversibilité de l'effet du NaCl est un paramètre qui peut aider à déterminer l'origine de l'effet dépressif de la salinité sur la germination. Ainsi, Hajlaoui et al. [25] ont rapporté qu'un prétraitement par des doses élevées de NaCl (68 mM et 102 mM) et le transfert des graines de pois chiche dans l'eau distillée est suivi d'une reprise de la germination. Néanmoins, la capacité germinative reste plus faible que celle obtenue chez les graines mises directement sur milieu témoin (0 mM). Dans notre travail, les variétés Luz De Otno, VITA et Defes ont montré une certaine irréversibilité de l'effet répressif de NaCl, ce qui probablement dénote des effets d'ordre osmotique et toxique au niveau cellulaire tout au moins durant la période de germination pris en compte, soit 4 jours et pour les doses de salinité testées. Tandis que cet effet paraît essentiellement d'ordre osmotique pour les variétés Aguadulce, Alfia 5 et Reina Mora. Nichols et al. [27] ont trouvé qu'il y a une inhibition totale irréversible de la germination des graines de *Medicago polymorpha* et *Trifolium subterraneum* à une concentration de 600 mM de NaCl même après transfert de celles-ci dans un milieu non salin.

#### 3.1.4. Effet de la salinité sur la mobilisation des réserves

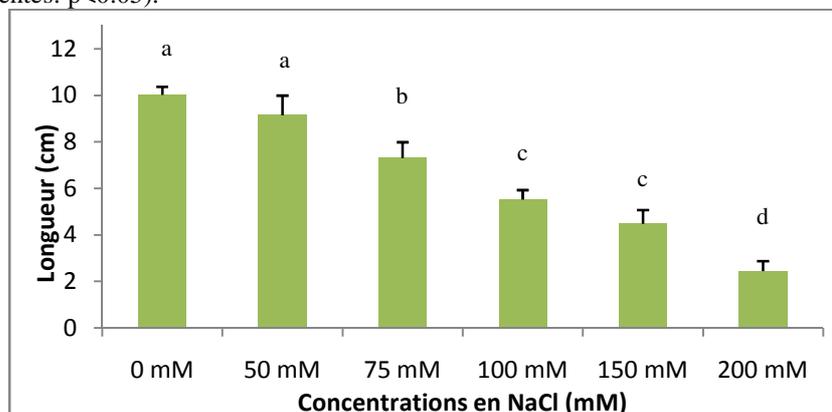
La mobilisation des réserves est une étape essentielle au cours de la quelle il ya dégradations des réserves pour soutenir les premiers stades de croissance des plantules. La vitesse d'épuisement des réserves a été estimée indirectement par la quantité de matière sèche résiduelle de la graine après 4 jours de germination. Les variétés Alfia 5 et Defes gardent des masses sèches résiduelles comparables chez les graines traitées avec du NaCl et chez les graines non traitées (témoins) (Figure 7). Par contre, les masses sèches résiduelles des graines d'Aguadulce, Reina Mora, Luz De Otno et VITA augmentent significativement avec l'augmentation de la concentration en NaCl. Ce qui suggère que pour ces dernières variétés le sel exerce un effet dépressif sur la mobilisation des réserves vers les plantules. Après l'imbibition de la graine, un ensemble de processus d'activités métaboliques se déclenchent pour l'expression des gènes et la synthèse d'enzymes qui hydrolysent les réserves nutritives destinées au développement de la plantule [19]. La mobilisation des réserves peut être estimée indirectement par la mesure de la matière sèche résiduelle au niveau des graines. Chez des génotypes de pois chiche traités par des solutions salines, Hajlaoui et al. [25] ont trouvé que la masse sèche résiduelle des graines en germination est plus élevée en présence de chlorure de sodium que sur milieu témoin. Dans le même contexte, l'efficacité d'utilisation des réserves des graines de soja diminue en fonction de la salinité [34].

#### 3.1.5. Effet de la salinité sur le développement et la structure racinaire des plantules de *V. faba*

Après 10 jours d'exposition des plantules à différentes concentrations en NaCl dans des tubes contenant 10 ml du milieu gélosé à base de la solution nutritive de Rigaud et Puppo, la longueur de la partie aérienne a été mesurée (Figure 8). Les résultats obtenus ont montré que la salinité exerce un effet inhibiteur sur la croissance des plantules de *V. faba* (variété Alfia 5) qui se traduit par une diminution de la longueur de la tige en fonction de l'augmentation de la salinité dans le milieu. La comparaison de l'effet des concentrations de NaCl montre qu'il est significatif au-delà de 50 mM. A 200 mM; la répression est telle que la croissance est inhibée d'environ de 75.6 %.

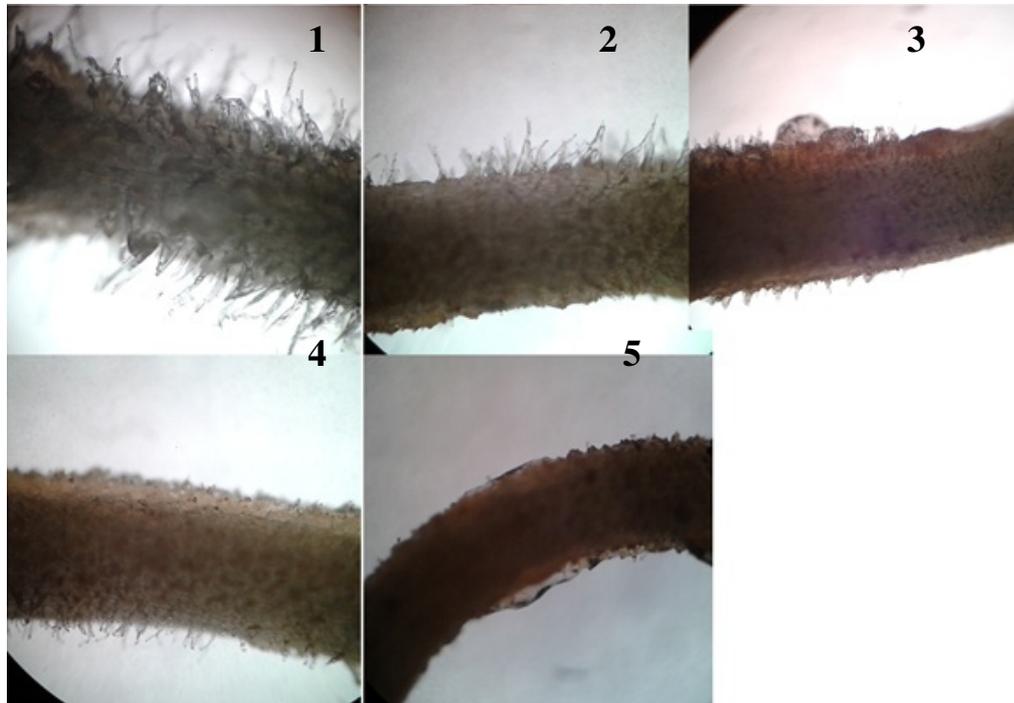


**Figure 7** : Effets de différentes concentrations en NaCl sur la mobilisation des réserves estimée par la quantité de matière sèche résiduelle après 4 jours de germination des graines de *V. faba* (les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes:  $p < 0.05$ ).



**Figure 8** : Effet de différentes concentrations en NaCl sur la croissance de la partie aérienne des plantules de *V. faba* (variété Alfa 5) cultivées *in vitro* pendant 10 jours (les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes:  $p < 0.05$ ).

En ce qui concerne l'effet de la salinité sur la structure racinaire des plantules de fève, nous notons un effet négatif sur la formation des poils absorbants (Figure 9). Cet effet est apparent à partir de la concentration en NaCl de 50 mM, et il est de plus en plus important au fur et à mesure qu'on augmente la concentration du chlorure de sodium dans le milieu. En effet, à 150 mM nous remarquons une réduction importante de la formation des poils absorbants.



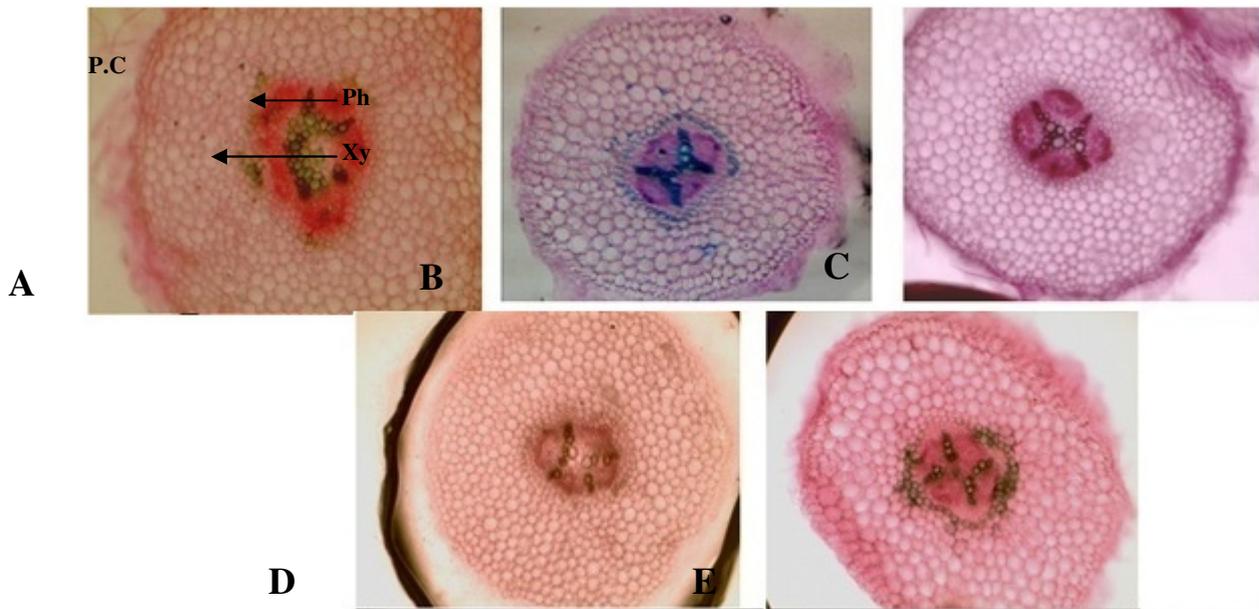
**Figure 9 :** Aspects des poils absorbants au niveau des racines des plantules de *V. faba* (variété Alfia 5) cultivées *in vitro* pendant 10 jours en présence de différentes concentrations de NaCl (G x100). 1: Témoin (0 mM), 2: 50 mM, 3: 75 mM, 4: 100 mM, 5: 150 mM.

Au niveau des coupes histologiques des racines, nous constatons qu'il y a des changements apparents au niveau histologiques induits par l'exposition à la salinité (Tableau 2 et Figure 10).

**Tableau 2 :** Analyse de quelques caractères histologiques et anatomiques au niveau des racines des plantules de *V. faba* (variété Alfia 5) soumises à différents traitements salins.

Concentration en NaCl	Xylème : Cellules/ faisceau	Parenchyme cortical	Observations
0 mM	6 à 16	8 à 14 assises	- Le xylème est sous forme de croix - Présence des formations secondaire - Mise en place des tissus vasculaires secondaires
50 mM	6 à 12	8 à 12 assises	- Le xylème est sous forme de croix - Mise en place des tissus vasculaires secondaires
75 mM	7 à 11	7 à 11 assises	- Le xylème est sous forme de croix - Mise en place des tissus vasculaires secondaires
100 mM	5 à 6	4 à 8 assises	- Le xylème ne forme plus une croix ou sous forme de croix incomplète
150 mM	5 à 6	7 à 8 assises	- Le xylème ne forme plus une croix ou sous forme de croix incomplète
200 mM		Absence de croissance racinaire	

Les plantules soumises à des niveaux élevés de salinité (100 et 150 mM) ont un nombre d'assises de parenchyme cortical nettement plus réduit que celui des plantules développées à faible concentration en NaCl. De même pour le xylème, nous avons remarqué qu'avec l'augmentation de la salinité, il y avait une diminution du nombre des cellules par faisceaux. De plus, en présence de sel à des concentrations de 100 et 150 mM, nous notons qu'il y a une absence ou tout au moins un retard dans la mise en place des tissus vasculaires secondaires.



**Figure 10** : Structure racinaire des plantules de *V. faba* cultivées *in vitro* pendant 10 jours en présence de différentes concentrations en NaCl (G : x 400). A: Témoin (0 mM), B: (50 mM), C: (75 mM), D: (100 mM), E: (150 mM) (Ph : phloème, Xy : xylème, P.C : parenchyme cortical).

D'une façon générale nous avons constaté, d'une part que la croissance en longueur diminue avec l'augmentation de l'intensité du stress conformément à ce que plusieurs auteurs ont remarqué chez le petit pois [21], les céréales [35], la fève [36] et la luzerne [37]. D'autre part, nous avons pu démontrer que la salinité entraîne une réduction des poils absorbants. Wang et al. [38] ont démontré que la longueur et la densité des poils absorbants diminuent significativement en fonction de la dose du sel chez *Arabidopsis thaliana*. Les coupes anatomiques des plantes cultivées *in vitro* pendant 10 jours en présence de différents niveaux de salinité, montrent qu'il y a modification et perturbation au niveau du développement histologique des racines des plantules. En effet, l'étude portée sur d'autres plantes telles que les plantules de *Glycine max* a montré que l'épaisseur des vaisseaux du xylème diminue avec la salinité, cela peut être dû en partie à la répression du développement du métaxylème [39]. Hameed et al. [40] ont conclu qu'une surface importante du métaxylème joue un rôle dans la conduction de l'eau et les nutriments, particulièrement sous des conditions salines. En outre, les résultats obtenus par Akram et al. [41] révèlent une diminution dans le parenchyme cortical et médullaire en présence de NaCl chez le blé.

## Conclusion

La germination des graines est un ensemble de processus métaboliques aboutissant à l'émergence de la radicule. Ce stade de développement est considéré comme une étape critique dans l'établissement des semis et ainsi la détermination d'une production agricole réussie. Nos résultats montrent que la salinité affecte les paramètres de germination examinés chez les variétés de fève. En tenant compte de l'ensemble des paramètres de germination étudiés, les variétés marocaines, notamment Aguadulce et Alfia 5 se sont montrées plus tolérantes à la salinité que les autres variétés testées. L'effet du NaCl peut être toxique et/ou osmotique. En effet, les variétés de fèves testées sont affectées par une dépression osmotique et toxique sauf Aguadulce et Alfia 5 qui semblent être affectées seulement par un effet osmotique. D'autre part, les concentrations élevées de salinité agissent négativement sur la croissance en longueur des plantules et réduit aussi bien la taille que la densité des poils absorbants. La salinité modifie la structure anatomique de la racine et conduit à une diminution du nombre des cellules par faisceau du xylème et du nombre d'assises du parenchyme cortical.

**Remerciements** - Ce travail est financé par le projet PRAD 11-01 / Egide N° 24186Q.

## Références

1. Benbrahim K. F., Ismaili M., Benbrahim S. F., Tribak A., *Sci. Chang. Planétaires / Sécheresse* 15 (2004) 307.
2. Manchanda G., Garg N., *Acta Physiol. Plant* 30 (2008) 595.
3. Eynard A., Lala R., Keith D.W. *In Encyclopedia of Soil Science*, (CRC Press) Chapter: 323 (2006) 1538.
4. MEMECEEE, Rapport de Diagnostic de l'Etat de l'Environnement au Maroc (Maroc : Ministère de l'Energie, des Mines, de l'Eau et de l'Environnement, Chargé de l'Eau et de l'Environnement Département de l'Environnement) (2010a) <http://www.environnement.gov.ma/index.php/fr/etat-env>

5. MEMECEE, Rapport National sur l'Etat de l'Environnement: Région Marrakech-Tensift-Al Haouz (Maroc: Ministère de l'Energie, des Mines, de l'Eau et de l'Environnement, Chargé de l'Eau et de l'Environnement Département de l'Environnement) (2010b) <http://www.environnement.gov.ma/index.php/fr/etat-env?id=129>
6. Rispaill N., Kaló P., Kiss G.B., Ellis T.H., Gallardo K., Thompson R.D., Prats E., Larrainzar E., Ladrera R., González E.M., *Field Crops Res.* 115 (2010) 253.
7. Coudurier B., Georget M., Guyomard H., Huyghe C., Peyraud J.L., *In Vers des Agricultures à Hautes Performances* 4 (2013) 66.
8. Graham P.H., Vance C.P., *Plant Physiol.* 131 (2003) 872.
9. MAPM, Situation de l'agriculture Marocaine (Maroc: Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime) (2012) <http://www.agriculture.gov.ma/pages/publications/situation-de-lagriculture-marocaine-n%C2%B010>
10. Parida A.K., Das A.B., *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60 (2005) 324.
11. Tavakkoli E., Fatehi F., Coventry S., Rengasamy P., McDonald G.K., *J. Exp. Bot.* 62 (2011) 218.
12. Le Deunff Y., *In La germination de semences* (1975) 81. Eds. R Chaussat and Y Le Deunff. Gauthier Villars, Paris.
13. Bewley J.D., *Plant Cell* 9 (1997) 1055.
14. Munns R., *Plant Cell Environ.* 25 (2002) 239.
15. Zaman-Allah M., Sifi B., L'Taief B., Hédi El Aouni M., *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13 (2009) 113.
16. Maaouia-Houimli S.I., Denden M., Dridi-Mouhanded B., Mansour-gueddes S.B., *Tropicultura* 29 (2011) 75.
17. Naceur M.B., Rahmoune C., Sdiri H., Meddahi M.L., Selmi M., *Sci. Chang. Planétaires / Sécheresse* 12 (2001) 167.
18. Alaoui M.M., El Jourmi L., Ouarzane A., Lazar S., El Antri S., Zahouily M., Hmyene A., *J. Mater. Environ. Sci.* 4 (2013) 997.
19. N'Dri A.A.N., Vroh-Bi I., Kouamé P.L., Zoro Bi I., *Sci. Nat.* 8 (2013) 119.
20. Rigaud J., Puppo A., *J. Gen. Microbiol.* 88 (1975) 223.
21. Okçu G., Kaya M.D., Atak M., *Turk. J. Agric. For.* 29 (2005) 237.
22. Kaymakanova M., *Biotechnol. & Biotechnol. EQ. SE.* 23 (2009) 326.
23. Asfaw K.G., *Curr. Res. J. Biol. Sci.* 3 (2011) 282.
24. Cokkizgin A., *Notulae Not. Bot. Horti. Agrobo.* 40 (2012) 177.
25. Hajlaoui H., Denden M., Bouslama M., *Tropicultura* 25 (2007) 168.
26. El-Monem A., Sharaf M., *N. Y. Sci. J.* 1 (2008) 70.
27. Nichols P.G.H., Malik A.I., Stockdale M., Colmer T.D., *Plant Soil* 315 (2009) 241.
28. Wu C., Wang Q., Xie B., Wang Z., Cui J., Hu T., *Afr. J. Biotechnol.* 10 (2011) 17954.
29. Amouri A.A., Fyad Lameche F.Z., *Acta Bot. Malacit.* 37 (2011) 93.
30. Ben Miled D., Bousaid M., Adblkeffi A., *Colloque sur les végétaux en milieu aride. Djerba 8- 10 sept. 1986. Fac. Sci. de Tunis ept. ACCTT* (1986) 586.
31. Ghrib C.D., Kchaou R., Gharbi F., Rejeb S., Khoudja L., Nejib Rejeb M., *Euro. Journals Publishing, Inc.* 50 (2011) 208.
32. Bayuelo-Jiménez J. S., Craig R., Lynch J. P., *Crop Sci.* 42 (2002) 1584
33. Mirmazloum S.I., Szabo K., PoorKalhor V., Németh E., *Hortic.* 21 (2010).
34. Rastegar Z., Kandi M.A.S., *Internat. J. Agron. Plant. Prod.* 2 (2011) 1.
35. Atak M., Kaya M.D., Kaya G., Çikili Y., CIFTCI C.Y., *Turk. J. Agric. For.* 30 (2006) 39.
36. Abdul Qados A.M.S., *J. Saudi Soci. Agric. Sci.* 10 (2011) 7.
37. Lachhab I., Louahlia S., Laamarti M., Hammani K., *Int. J. Innov. Appl. Studies* 3 (2013) 511.
38. Wang Y., Zhang W., Li K., Sun F., Han C., Wang Y., Li X., *J. Plant Res.* 121 (2008) 87.
39. El-Rodeny W.M., EL-Okkiah A. F. S., *Egypt. J. Bot. 2nd International conference, 29-30 April, Minia Univ.* (2012) 37.
40. Hameed M., Nawaz T., Ashraf M., Naz N., Batool R., Ahmad M.S.A., Riaz A., *Turk. J. Bot.* 37 (2013) 715-724.
41. Akram M., Ahmad A., Jan m M., *J. Biol. Sci.*, 2 (2002) 1035.

(2015) ; <http://www.jmaterenvirosci.com/>