

Nom et Prénom : ECH-CHEDDADI SARA

Date de soutenance : 21/07/2022

Directeur de Thèse : ROCHDI ATMANE

Sujet de Thèse :

**Production de la canne à sucre sous conditions de stress :
criblage des variétés tolérantes à la salinité en se basant sur des critères morpho-physiologiques et
biochimique, en vue de rechercher des caractères discriminatoires**

Résumé:

La culture de la canne à sucre au Maroc est touchée par une salinité croissante car les principales sources d'eau d'irrigation au Maroc sont des oueds à risque salin important. La recherche de variétés relativement tolérantes dès les premiers stades de développement de la canne à sucre est une alternative prometteuse en termes d'adaptation au contexte de la salinisation des sols. La méthodologie de ce travail a porté en premier lieu sur la prospection des sols de la rhizosphère de la canne à sucre. L'étude menée pour caractériser les propriétés physicochimiques et l'état de la salure du sol de six stations de la région du Gharb, a montré qu'ils sont moyennement calcaires à calcaires avec des potentiels d'hydrogène légèrement alcalins. La conductivité électrique montre une corrélation négative significative avec la matière organique, le carbone organique, l'azote et le potassium. La classification hiérarchique a permis de regrouper les sites en 3 groupes distincts, les stations S3 et S4 caractérisés par un pH élevé et une conductivité électrique moyenne, tandis que les stations S1 et S2 présentent une conductivité élevée et une richesse en sodium. Cependant, les stations S5 et S6 sont caractérisées par une faible conductivité électrique et l'abondance de la matière organique, du carbone organique, du potassium échangeable et du phosphore assimilable. En outre, les eaux utilisées en irrigation, provenant des puits, ont une conductivité électrique trop élevée, ce qui représente un risque sévère de salinité des sols. D'autre part, l'analyse de la qualité des drains témoigne d'un problème de salinité croissante des sols. Par ailleurs, l'identification de la diversité des CM associées à la culture de la canne à sucre a montré que toutes les racines étaient mycorhizées et présentaient des structures endomycorhiziennes de type arbusculaire. L'analyse des caractéristiques morpho-anatomiques des spores isolées de la rhizosphère de la canne à sucre a permis d'identifier sept morphotypes (*Scutellospora nigra*, *Septoglomus constrictum*, *Rhizophagus intraradice*, *Rhizophagus irregularis*, *Rhizophagus clarus*, *Funneliformis mosseae* et *Acaulospora faveata*) appartenant à trois genres (*Glomus*, *Acaulospora* et *Scutellospora*) avec abondance du genre *Glomus*. L'évaluation des corrélations possibles entre la salinité du sol et le profil mycorhizien dans les stations prospectées a révélé une corrélation négative entre l'abondance des morphotypes des CMA et la salinité des sols. En effet, parmi les six sites, les sols rhizosphériques des sites S1 et S2 qui présentent une conductivité élevée ont montré un nombre de spores très réduit et un potentiel mycorhizogène (PM) plus faible. Par la suite, nous avons évalué la variabilité du comportement de dix variétés (CP 45-1248, CP 73-1547, CP 79-1658, L 65-69, MORCP 86-10, CP66-346, CP75-1322, CP78-1140, SP 71-6163, L62-96) de canne à sucre vis-à-vis de la contrainte saline et nous avons cherché à connaître certains mécanismes de tolérance élaborés face à l'application de NaCl (0 ; 0,625 ; 1,25 ; 2,5 à 5 g/l NaCl) durant différentes phases de croissances. Ainsi nous avons essayé de cribler les paramètres morpho-physiologiques et biochimiques qui permettent de juger une variété tolérante ou sensible à la salinité. Les résultats de la phase de débourrement germinatif (à l'étuve en obscurité) montrent que l'effet de la salinité se traduit par la diminution des taux de germination, de la germination corrigée, de la germination finale, du coefficient de vitesse de germination et de l'indice de vigueur de germination, avec aussi une augmentation du temps moyen de germination. D'autre part, l'application de NaCl s'est traduit également par une diminution significative du nombre de feuille, de la surface foliaire, de la longueur aérienne, du diamètre de la tige, de l'enracinement et de la biomasse. L'ensemble des paramètres testés montre la variabilité de la tolérance relative au stress salin entre les dix variétés de canne à sucre au cours du stade germination. Les variétés CP 45-1248, CP66-346 et CP78-1140, ont été relativement tolérante au sel ; les variétés CP 79-1658, MORCP 86-10, CP75-1322 se sont montrées modérément tolérantes, contrairement aux variétés CP 73-1547, L65-69, SP 71-6163 et L62-96 qui présentent une sensibilité plus grande à la salinité. La classification des variables a révélé que le diamètre de la tige et l'indice de germination étaient des traits fiables pour évaluer la tolérance au sel de la canne à sucre pendant le débourrement germinatif. Les résultats de l'effet de NaCl sur les variétés de canne à sucre pendant la phase post-germinative (en chambre de culture sous photopériode 16 h) ont également montré que la salinité exerce des effets nuisibles non seulement sur la croissance pondérale, mais

aussi sur les autres paramètres morphologiques étudiés. Pour le degré de tolérance vis-à-vis de la salinité, on peut confirmer que les variétés gardent le même classement pour leur tolérance déterminée pendant la phase de débourrement germinatif. La longueur de la tige suivie du taux de survie, apparaît comme les paramètre les plus appropriés pour l'étude de l'effet du stress salin chez la canne à sucre pendant ce stade. Lors de la croissance sous serre, l'action du stress salin s'est traduite par un effet dépressif sur tous les paramètres de croissance : hauteur des plants, surface foliaire, surface foliaire spécifique, nombre de feuilles, largeur de feuille, diamètre de la tige et longueur racinaire ainsi que le poids frais et sec des feuilles et des racines. Les teneurs en pigments chlorophylliens et en caroténoïdes est également réduite. Le suivi du contenu ionique indique que l'accumulation de Na^+ est plus importante dans les racines par rapport aux feuilles de la canne à sucre, montrant sa nature glycophytique « exclure ». La recirculation de Na^+ vers le système racinaire présume une forme d'adaptation au stress salin. Sous contrainte saline, une diminution du K^+ et du ratio K^+/Na^+ s'exprime également. Les modifications métaboliques provoquent un stress oxydatif, cela se traduit par une accumulation de peroxyde d'hydrogène, et d'une peroxydation lipidique provoquant la fuite d'électrolytes. Par ailleurs le NaCl , à concentrations élevées, avantage l'accumulation de certains osmoprotectants (sucres solubles totaux et proline) impliqués dans les mécanismes d'ajustement osmotique, ce qui explique le maintien d'un statut hydrique plus au moins satisfaisant, notamment chez les variétés tolérantes. En outre, la classification des variables a révélé que le diamètre de la tige, la longueur racinaire, Chl totale, H_2O_2 , Na^+ (feuille/racine), Cl^- (feuille), K^+ (feuille/racine), Cl^- (feuille/racine) pourront servir de critères de sélection pour la tolérance au sel chez la canne à sucre pendant cette phase de croissance sous serre.

En tenant compte de la variation observée des différents aspects étudiés pendant les trois étapes de culture séquentielle, le classement des variétés pour leur tolérance au sel n'a pas présenté de différence entre le stade de germination et celui post germinatif. De plus, il a été constaté que la tolérance au stade germination, dans les conditions de nos expériences, ne reflète pas dans tous les cas celle au stade de la croissance sous serre, puisque la tolérance/sensibilité à la salinité des variétés (CP 73-1547, CP 79-1658, MORCP 86-10, CP75-1322 et L62-96) a fluctué selon le stade de développement de la plante. Les variétés L 65-69 et SP 71-6163, classées parmi les plus sensibles au sel durant la germination, manifestent une sensibilité importante vis-à-vis de NaCl au stade plantule sous serre. Les variétés CP 45-1248, CP66-346, CP78-1140 reconnues par leur tolérance à la salinité, très marquée, aux stades germinatif et post-germinatif, conserve globalement leur tolérance au stade croissance sous serre. Ces résultats contribueront grandement à l'évaluation et à la sélection précoce de la tolérance au sel de la canne à sucre dès les premiers stades de son développement.

Mots clés: *Saccharum officinarum*, rhizosphère, stress salin, germination, croissance, nutrition, statut hydrique, ajustement osmotique, tolérance à la salinité, critère de sélections.

Abstract :

The cultivation of sugar cane in Morocco is affected by increasing salinity because the main sources of irrigation water in Morocco are wadis with significant saline risk. The search for relatively tolerant varieties from the early stages of sugar cane development is a promising alternative in terms of adaptation to the context of soil salinization. The methodology of this work focused primarily on the prospecting of soils in the rhizosphere of sugarcane. The advanced study to characterize the physicochemical properties and the state of soil salinity of six stations in the Gharb region, showed that they are moderately calcareous to calcareous with slightly alkaline hydrogen potentials. Electrical conductivity shows a significant negative correlation with organic matter, organic carbon, nitrogen and potassium. The hierarchical classification made it possible to group the sites into 3 distinct groups, the S3 and S4 stations characterized by a high pH and an average electrical conductivity, while the S1 and S2 stations present a high conductivity and a richness in sodium. However, stations S5 and S6 are characterized by low electrical conductivity and the abundance of organic matter, organic carbon, exchangeable potassium and available phosphorus. In addition, the water used for irrigation, coming from wells, has an excessively high electrical conductivity, which represents a severe risk of soil salinity. On the other hand, the analysis of the quality of the drains shows a problem of increasing soil salinity. Furthermore, the identification of the diversity of CM associated with the cultivation of sugar cane showed that all the roots were mycorrhizal and presented endomycorrhizal structures of the arbuscular type. Analysis of the morpho-

anatomical characteristics of spores isolated from the rhizosphere of sugarcane allowed the identification of seven morphotypes (*Scutellospora nigra*, *Septoglosum constrictum*, *Rhizophagus intraradix*, *Rhizophagus irregularis*, *Rhizophagus clarus*, *Funneliformis mosseae* and *Acaulospora faveata*) three genera (*Glomus*, *Acaulospora* and *Scutellospora*) with abundance of the genus *Glomus*. The assessment of possible correlations between soil salinity and mycorrhizal profile in the surveyed stations has a negative correlation between the abundance of CMA morphotypes and soil salinity. Indeed, among the six sites, the rhizospheric soils of the S1 and S2 sites which present a high conductivity showed a very reduced number of spores and a lower mycorrhizogenic potential (PM). Subsequently, we evaluated the variation in behavior of ten varieties (CP 45-1248, CP 73-1547, CP 79-1658, L 65-69, MORCP 86-10, CP66-346, CP75-1322, CP78-1140, SP 71-6163, L62-96) of cane sugar vis-à-vis the salt constraint and we sought to know certain mechanisms of tolerance developed in the face of the application of NaCl (0; 0.625; 1.25; 2.5 to 5 g / l NaCl) during different growth phases. Thus we tried to screen the morpho-physiological and biochemical parameters which make it possible to judge a variety tolerant or sensitive to salinity. The results of the germination phase (in an oven in the dark) indicate that the effect of salinity results in the reduction of germination rates, corrected germination, final germination, and the germination speed coefficient. and the germination vigor index, also with an increase in the mean germination time. On the other hand, the application of NaCl also resulted in a significant decrease in leaf number, leaf area, aerial length, stem diameter, rooting and biomass. All the parameters tested show the variation in tolerance to salt stress between the ten varieties of sugarcane during the germination stage. The varieties CP 45-1248, CP66-346 and CP78-1140, were relatively tolerant to salt; the varieties CP 79-1658, MORCP 86-10, CP75-1322 were shown to be moderately tolerant, tolerance to the varieties CP 73-1547, L65-69, SP 71-6163 and L62-96 which have a greater sensitivity to salinity. Classification of variables revealed that stem diameter and germination index were traits to assess tolerance to sugarcane salt during sprouting. The results of the effect of NaCl on sugarcane varieties during the post-germination phase (in a grow room under a 16 h photoperiod) also showed that salinity exerts detrimental effects not only on weight growth, but also on the other morphological parameters studied. For the degree of tolerance to salinity, it can be confirmed that the varieties keep the same classification for their tolerance determined during the germination phase. The length of the stem followed by the survival rate appears to be the most appropriate parameter for studying the effect of salt stress in sugar cane during this stage. When growing in a greenhouse, the action of salt stress resulted in a depressive effect on all growth parameters: height of plants, leaf area, specific leaf area, number of leaves, leaf width, diameter of the plant. stem and root length as well as the cool, dry weight of leaves and roots. The content of chlorophyll pigments and carotenoids is also reduced. Monitoring the ionic content indicates that the accumulation of Na⁺ is greater in the roots compared to the leaves of sugarcane, showing its glycophytic "excluder" nature. The recirculation of Na⁺ to the root system suggests a form of adaptation to salt stress. Under salt stress, a decrease in K⁺ and in the K⁺/Na⁺ ratio is also expressed. Metabolic changes cause oxidative stress, which results in a build-up of hydrogen peroxide, and lipid peroxidation causing electrolyte leakage. Moreover, NaCl, at high concentrations, favors the accumulation of certain osmoprotectants (total soluble sugars and proline) involved in the osmotic adjustment mechanisms, which explains the maintenance of a more or less satisfactory water status, especially in tolerant varieties. Further, the classification of variables revealed that the stem diameter, root length, total Chl, H₂O₂, Na⁺ (leaf/root), Cl⁻ (leaf), K⁺ (leaf/root), Cl⁻ (leaf /root) may serve as selection criteria for salt tolerance in sugarcane during this phase of greenhouse growth. Taking into account the variation observed in the different aspects studied during the three stages of sequential cultivation, the classification of the varieties for their salt tolerance did not show any difference between the germination stage and the post-germination stage. In addition, it was observed that the tolerance at the germination stage, under the conditions of our experiments, does not in all cases reflect that at the stage of growth in the greenhouse, since the tolerance / sensitivity to the salinity of the varieties (CP 73 -1547, CP 79-1658, MORCP 86-10, CP75-1322 and L62-96) fluctuated according to the stage of development of the plant. The varieties L 65-69 and SP 71-6163, classified among the most sensitive to salt during germination, show a high sensitivity to NaCl at the seedling stage in the greenhouse. The varieties CP 45-1248, CP66-346, CP78-1140 recognized by their tolerance to salinity, very marked, at the germination and post-germination stages, generally retain their tolerance at the greenhouse growth stage. These results will greatly contribute to the evaluation and early selection of salt tolerance in sugarcane from the early stages of its development.

Key words: Saccharum officinarum, rhizosphere, salt stress, germination, growth, nutrition, water status, osmotic adjustment, tolerance to salinity, selection criteria.