CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER
المؤتمر الدولي للأركان
ⴰⵙⵎⵓⵏ ⴰⵎⴰⴹⵍⴰⵏ ⵏ ⵓⵙⵔⴰⵏ

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique
شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي
Argan tree facing the challenge of climate change

7ème édition
الصويرة
Essaouira
2024 ماي 12<10
10>12 Mai 2024

Effet de la température et de la lumière sur l'optimisation de la germination et la croissance chez l'arganier (*Argania spinosa* (L.)).

Université Ibn Tofaïl

Bensaid Ayoub*, El Khadir Issam, Mouniane Yassine, Soufiani Abdelaati, Chriqui Ahmed, Doubi Meryem, Zoubir Mohamed Haitam , Ramdan Rajae et Hmouni Driss.

Laboratoire des ressources naturelles et développement durable, Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences, Kénitra 14000, Maroc.

Résumé

Le présent travail avait pour objectif d'évaluer et comparer l'effet de certains facteurs abiotiques sur la germination et la croissance des plants de l'arganier. Des graines et des plants d'arganier issus de deux écotypes (Agadir, Essaouira) ont été cultivés dans des conditions différentes de température (20 °C, 30 °C, 35 °C) et de lumière (sous ombrage total ; sous la lumière). Les résultats obtenus montrent que les plantes de l'arganier se développent normalement en les exposant à la lumière et à une température de 30 °C, et que cette plante s'adapte aussi avec les valeurs extrêmes de ces deux facteurs étudiés, mais avec différents degrés, selon l'écotype. Tandis que ces valeurs restent limitantes pour la germination. Le taux de germination le plus élevé (83 %) a été enregistré chez les graines de l'écotype d'Agadir ayant germées sous la lumière et sous une température de 30 °C. Sous ombrage à une température de 20 °C, le taux de germination devient nul pour les deux écotypes.

Mots-clés : *Argania spinosa*, Ecotype, Ombre, Température, Lumière.

Introduction

L'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) est une sapotacée endémique du sud-ouest du Maroc caractérisée par une longévité de plus de 300 ans [1]. Avec une superficie de 830.000 ha [2], l'arganier est considéré comme un arbre agroforestier d'une grande importance au Maroc. Il se caractérise par une grande variabilité génétique qui a contribué à sa résilience face aux changements climatiques extrêmes depuis l'ère tertiaire [3]. La capacité de régénération naturelle de l'arganier est très limitée en raison des conditions climatiques difficiles, du surpâturage et de la récolte excessive de graines pour l'extraction de l'huile [4]. Cette étude vise à évaluer les effets de certains facteurs abiotiques, tels que la température et la lumière, sur la germination et le développement initial des plantules de l'arganier. Deux écotypes distincts ont été examinés pour évaluer leur adaptabilité à ces conditions environnementales.

Matériel et méthodes

Des graines d'arganier ont été collectées à partir de deux régions (Agadir et Essaouira), pour les utilisées dans le test de germination.

Les graines ont été trempées dans l'eau pendant 24 heures, puis placées pour germination dans un substrat composé de la tourbe pendant 3 semaines sous différentes conditions de température (20ºC, 30ºC, 35ºC; ±2ºC), et de lumière (ombre et exposition directe à la lumière (16h)). Pour le test de croissance, des plantes de 2 mois sont placées dans les mêmes conditions de la germination pendant une période d'un mois.

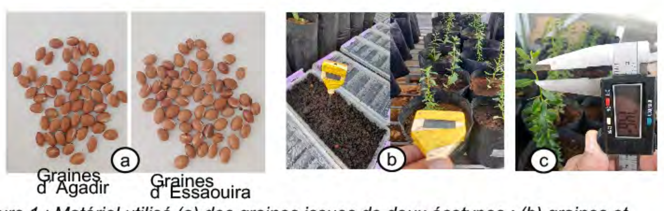


Figure 1 : Matériel utilisé (a) des graines issues de deux écotypes ; (b) graines et plantules sous des conditions contrôlées (température, lumière) ; (c) mesure de la langueur des entre nœuds à l'aide d'un pied à coulisse.

Les paramètres suivis au cours de cette étude sont : le taux de germination, le temps de latence et la longueur des entre nœuds de la tige.

Résultats

• Taux de germination

Les résultats montrent que la température et la lumière influencent significativement le taux de germination des graines de l'arganier (Tableau 1). Le taux de germination le plus élevé (83,33 %) été obtenus chez les graines issus de l'écotype d'Agadir mis en germination sous la lumière à une température de 30 ºC. Pour l'écotype d´Essaouira, les taux de germination les plus élevés (76 % et 66,67%) été obtenus chez les graines qui ont mis en germination sous la lumière à des températures de 25ºC, 30ºC & 25ºC, respectivement. À une température de 20 ºC et sous l'ombre la germination devient nulle pour les deux écotypes (Figure 2).

***Tableau 1:** Test statistique ANOVA sur l'effet de la température, de la lumière et de l'écotype sur le taux de germination.*

Variables	Probabilité	Signification
Température	0,001650	**
Lumière	0,031858	*
Ecotype	0,761969	-

*** : P<<0,05 (différence hautement significative), * : P<0,05 (différence significative), – : P>0,05 (différence non significative).*

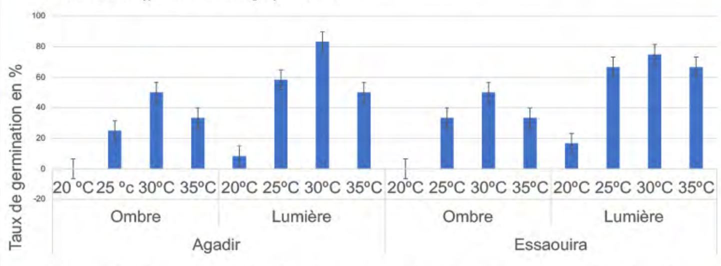


***Figure 2 :** Taux de germination des graines des deux écotypes en fonction des différents traitements appliqués.*

• Temps de latence

Le temps de latence chez les graines d'arganier dépend de leur exposition à la lumière, de la température et de l'écotype ; le temps de latence le plus court (6 jours) été enregistré chez les graines issues d'Essaouira qui ont germées sous la lumière à une température de 25 ºC&30 ºC, et également chez les graines d'Agadir ayant séjourné sous une température de 30 ºC (Figure 3). La température a un effet très significatif sur le temps de latence (Tableau 2).

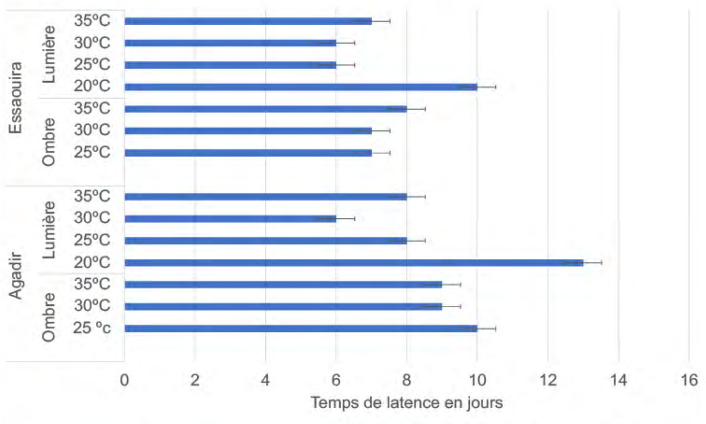


***Figure 3 :** Variation du temps de latence en fonction de l'écotype, la lumière et la température.*

***Tableau 2:** Test statistique ANOVA sur l'effet de la température, de la lumière et de l'écotype sur le temps de latence.*

Variable	Probabilité	Signification
Température	0,002499	**
Lumière	0,148903	-
Ecotype	0,518174	-

*** : P<<0,05 (différence hautement significative), – : P>0,05 (différence non significative).*

• Taille des entre nœuds

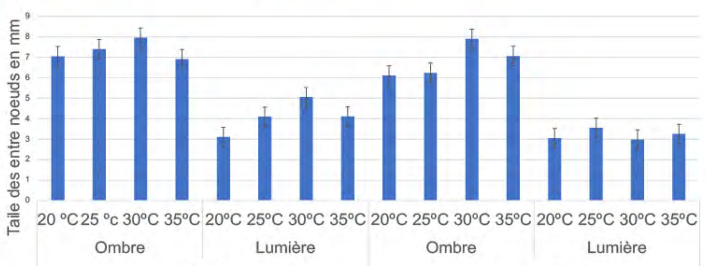


***Figure 4 :** Variation de la taille des entre nœuds des plantes d'arganier en fonction de l'écotype et de différents facteurs climatiques.*

La taille des entre nœuds varie en fonction de la température appliquée, la lumière et de l'écotype (Figure 4). Sous l'ombre, elle augmente, alors que sous la lumière elle reste réduite. Sous l'ombre la taille des entre nœuds est plus longue chez les plants issus d'Agadir en comparaison avec d'Essaouira.

Par contre, exposant les plantes à la lumière, la taille des entre nœuds reste plus réduite chez les plantes d'Essaouira (Figure 5). La lumière a un effet hautement significatif sur la langueur des entre nœuds (Tableau 3).

***Tableau 3**:Test statistique ANOVA sur l'effet de la température, de la lumière et de l'écotype sur la longueur des entre nœuds.*

Variable	Probabilité	Signification
Température	0,890760	-
Lumière	0,000300	**
Ecotype	0,080390	-

*** : P<<0,05 (différence hautement significative), – : P>0,05 (différence non significative).*

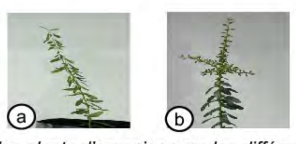


***Figure 5 :** Adaptation des plants d'arganier avec les différents facteurs étudiés (a) plant de la région d'Agadir cultivé sous l'ombre à une température de 25 ºC ; (b) plant de la région d'Essaouira cultivé en exposition à la lumière à une température de 30 ºC.*

Conclusion

En considérant l'ensemble des résultats obtenus lors de cette étude, on peut conclure que les conditions de température et de la lumière ont un effet considérable sur les paramètres de germination. Avec un effet marqué de l'écotype. L'origine des graines a un impact sur le temps de latence et sur le pourcentage final de germination. Dans des conditions de températures plus basses (20°C) et en absence de la lumière, la germination devient nulle pour les deux écotypes.

On peut considérer ces facteurs comme étant limitants pour la germination des graines de l'arganier. Les plants d'arganier se développent même dans des températures élevées 35 ºC. L'arganier s'adapte par la variation des conditions climatiques (température, lumière), cette adaptation varie d'un écotype à l'autre. Les plantes d'Essaouira sont mieux adaptées avec les valeurs maximales, alors que les plantes d'Agadir sont plus adaptées avec les valeurs minimales de ces facteurs climatiques. Cette étude met en évidence les effets différenciés des facteurs climatiques sur la germination et le développement initial de l'arganier, en mettant en lumière l'importance de la diversité génétique pour assurer sa résilience face aux changements environnementaux. Ces résultats fournissent des informations précieuses pour orienter les stratégies de conservation et de la régénération de notre espèce endémique noble.

Références bibliographiques

1. *Boudy P. Economie forestière Nord-africaine-Tome 2 : monographies et traitements des essences forestières. 1950.*
2. *Naggar M. La gestion durable de l'arganeraie et les enjeux de lutte contre la désertification. Espace Géographique et Société Marocaine. 2018 .*
3. *Nouaim R. L'arganier au Maroc: Entre mythes et réalités-Une civilisation née d'un arbre. 2005 .*
4. *Mezghenni H, Hamrouni L, Hanana M, Jamoussi B, Bouzid S, Khouja ML, et al. Multiplication de l'Arganier Argania spinosa (L.) Skeels. Journal of New Sciences. 2014.*

Contact

Email : ayoub.bensaid@uit.ac.ma ;

المملكة المغربية
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts
الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier
ANEF
الوكالة الوطنية للمياه والغابات
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS
المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER
المؤتمر الدولي للأركان

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique
شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي
Argan tree facing the challenge of climate change

7 ème édition
الصويرة
Essaouira
2024 ماي 12<10
10>12 Mai 2024

La régénération *in vitro* de l'arganier par microbouturage à partir du matériel adulte

Ilham Amghar [1,2]*, Ghizlane Diria [1], Fatima Gaboun[1], Mohammed Ibriz[2] and Rabha Abdelwahed [1]
1 UR Biotechnologie, CRRA-Rabat, Institut National de la Recherche Agronomique, BP 6570, Rabat 10101, Maroc;
2 Laboratoire de Génétique et Biométrie, Département de Biologie, Faculté des Sciences de Kénitra, Université Ibn Tofail, BP 133, Kenitra 14000, Maroc ;
***Correspondance : amghar.ilham@gmail.com ;**

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

RESUME

La sauvegarde de l'arganeraie marocaine et sa valorisation par le développement de l'arganiculture sont des objectifs des stratégies nationales « Génération verte » et « Forêts du Maroc ». Néanmoins, la propagation végétative de l'arganier reste difficile en raison des problèmes de vieillissement physiologique et d'enracinement. L'application donc de la technique de microbouturage peut être une alternative im-portante pour sa domestication rapide et pour le développement de l'arganiculture avec des clones élites sélectionnés. Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif de développer un protocole efficient de microbouturage *in vitro* de l'arganier à partir du matériel adulte . En effet, avec ce protocole on a pu avoir un taux de débourrement des microboutures de 93,33% en utilisant une combinaison hormonale de 2 $mg.L^{-1}$ de Benzylaminopurine (BAP) et de 0.5 $mg.L^{-1}$ d'Acide indole-3-butyrique (AIB), une meilleure élongation sur un milieu contenant 2 mg. L^{-1} d'Acide gibbérellique (AG_3) et un taux d'enracinement de 50 % sur un milieu contenant l'AIB combiné avec l'ANA ,la putrescine et l'$AgNO_3$. Par ailleurs, le nitrate d'argent ($AgNO_3$) a permis d'optimiser et d'améliorer la qualité des pousses. L'acclimatation des boutures a été réussite à 100% sur un substrat formé de sable et de tourbe.

INTRODUCTION

L'arganier (*Argania spinosa L.*), arbre endémique du sud-ouest marocain, couvrant environ 952 200 hectares [1], présente un potentiel socioéconomique et écologique très important. Malgré ces intérêts, on assiste au cours de ces dernières décennies à une régression alarmante des arganeraies marocaines aussi bien en surface qu'en densité. Cette dégradation est essentiellement due à la désertification, la pression démographique, l'activité pastorale, la surexploitation des ressources forestières par la population locale et l'effet des changements climatiques. Ainsi, la préservation de l'arganier et son écosystème et la réhabilitation des zones dégradées sont devenues une priorité nationale dans la stratégie « Génération verte » afin d'assurer la gestion durable de ce système agro-forestier unique. Cependant, la multiplication végétative des espèces ligneuses à partir du matériel adulte a pour avantage majeur une reproduction fidèle du génotype préalablement sélectionné pour sa performance et la réduction de la phase juvénile. L'application donc de la technique de microbouturage reste une alternative importante pour le renforcement de la résilience de l'arganier, sa domestication rapide et le développement de l'arganiculture avec les clones élites sélectionnés. Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif de développer un protocole efficient de microbouturage de l'arganier en utilisant le matériel adulte via la résolution des problèmes de contamination, de brunissement, de la récalcitrance à la régénération ainsi qu'au problème de développement des racines non opérationnelles dans des conditions *ex vitro*.

MATERIEL ET METHODES

1.Matériel végétal
Le matériel végétal utilisé dans ce travail correspond à des boutures d'arganier qui ont été récoltées dans la région d'Essaouira. Les rameaux ont été défoliés puis coupés en boutures de 1.5 cm, et stérilisé selon le protocole décrit par Amghar et al. (2021a)[2].

2.Milieux et conditions de culture
Le milieu de base utilisé dans ce protocole est le milieu MS [3], additionné de différentes combinaisons et concentrations de régulateurs de croissance : La cytokinine BAP, l'acide gibbérellique (AG_3) l'auxine l'AIB (tableau 1)
Après multiplication dans un milieu de base additionné de 2 mg.L-1 de nitrate d'argent ($AgNO_3$) et 2 mg.L-1 d'AG_3, les pousses ayant une longueur supérieure à 1.5 cm, avec 6 à 9 feuilles, ont été utilisées pour les essais d'enracinement sur un milieu d'enracinement [4] complet (M) ou dilué de moitié (M/2). Les pousses enracinées ont été transférées sur un substrat constitué d'un mélange de sable et du terreau pour leur acclimatation [4].
Les cultures ont été placées dans une chambre de culture à une température de 25 ± 1°C et une photopériode de 16h/8h. Le pourcentage de débourrement, le nombre moyen de pousses par explant, la longueur des microboutures et le pourcentage d'enracinement ont été enregistrés.

3.Analyses statistiques
Les expériences ont été mises en place dans une conception complètement randomisée. Toutes les expériences ont été répétées deux fois avec 3 répétitions par traitement. L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée pour évaluer la significativité entre les traitements. Une procédure de comparaison multiple par paires a été réalisée en utilisant le test de la différence la moins significative (LSD) de Fisher au niveau de signification de 0,05. Les données de pourcentage ont été transformées en arcsinus avant analyse.

RESULTATS ET DISCUSSION

1- Effet du milieu sur le taux de débourrement

Figure 1: Aspect des boutures adventives dans le milieu M7 contenant 2 mg.L-1du BAP et 0.5 mg.L-1AIB après 30 jours de culture

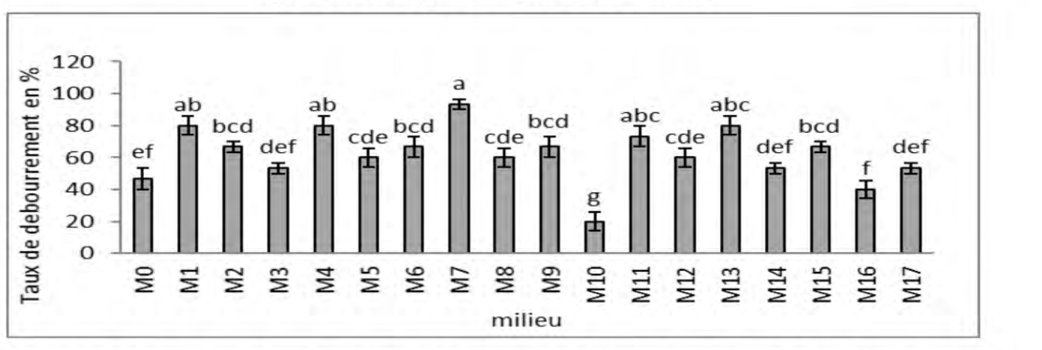


Figure 2 : Taux de débourrement de différents milieux en (%), après 60 jours de culture sur milieu de base MS. Les barres représentent la moyenne ± ES, les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes à P <0,05

Tableau 1: Effet du BAP, AG3 et l'AIB sur le pourcentage de débourrement, le nombre moyen de débourrement par explant et la longueur moyenne des pousses. * Les valeurs dans la même colonne et avec des lettres différentes sont significativement différentes à p <0,05 . MS: milieu de base Murashige et Skoog

Traitement	Phytohormones $mg.L^{-1}$			Taux de débourrement (%)	no. moyen de débourrement /explant	Longueur moyenne des pousses (cm)	no. Moyen des feuilles/ explant
	BAP	AG_3	AIB				
M0	0	0	0	$46,66±6.66^{ef}$	$1.14±0.14^{abc}$	$0.68±0.17^{abc}$	$20.57±3.25^{ab}$
M1	0	0	0.5	$80±5.77^{ab}$	$1.25±0.13^{ab}$	$0.38±0.15^{c}$	$17.91±2.42^{abcd}$
M2	0	1	0	$66,66±3.33^{bcd}$	$1.13±0.19^{abc}$	$0.93±0.10^{abc}$	$10.6±0.99^{cde}$
M3	0	1	0.5	$53,33±3.33^{def}$	$0.60±0.16^{c}$	$0.69±0.05^{abc}$	$12.13±1.12^{bcde}$
M4	0	2	0	$80±5.77^{ab}$	$1.00±0^{bc}$	**$1.39±0.19^{a}$**	$12.93±1.25^{bcde}$
M5	0	2	0.5	$60±5.77^{cde}$	$1.06±0.06^{bc}$	**$1.44±0.19^{a}$**	$16.26±1.39^{abcde}$
M6	2	0	0	$66,66±6.66^{bcd}$	$1.57±0.29^{ab}$	$0.82±0.37^{abc}$	$13±0.75^{bcde}$
M7	2	0	0.5	**$93,33±3.33^{a}$**	$1.38±0.14^{ab}$	$1.06±0.23^{abc}$	**$21.92±2.8^{a}$**
M8	2	1	0	$60±5.77^{cde}$	$1.14±0.09^{abc}$	$0.99±0.10^{abc}$	$8.57±0.55^{e}$
M9	2	1	0.5	$66,66±6.66^{bcd}$	$1.11±0.11^{bc}$	$0.53±0.32^{c}$	$9.77±2.71^{de}$
M10	2	2	0	$20±5.77^{g}$	$1.50±0.50^{ab}$	$1.25±0.25^{ab}$	$8.5±1.5^{e}$
M11	2	2	0.5	$73,33±6.66^{abc}$	$1.25±0.16^{ab}$	$0.92±0.46^{abc}$	$9.12±2.55^{e}$
M12	4	0	0	$60±5.77^{cde}$	**$1.75±0.25^{a}$**	$0.45±0.11^{c}$	$8.5±1.34^{e}$
M13	4	0	0.5	$80±5.77^{abc}$	$1.36±0.15^{ab}$	$0.66±0.26^{bc}$	$18.63±3.23^{abc}$
M14	4	1	0	$53,33±3.33^{def}$	$1.16±0.16^{abc}$	$0.91±0.15^{abc}$	$12.83±2.77^{bcde}$
M15	4	1	0.5	$66,66±3.33^{bcd}$	$1.70±0.16^{a}$	$0.77±0.29^{abc}$	$18.12±3.18^{abcd}$
M16	4	2	0	$40±5.77^{f}$	$1.33±0.33^{ab}$	$1.36±0.36^{a}$	$16.33±2.72^{abcde}$
M17	4	2	0.5	$53,33±3.33^{def}$	$1.14±0.14^{abc}$	$0.78±0.41^{abc}$	$13.28±3.92^{bcde}$

L'analyse de la variance montre que l'effet de la combinaison des 3 phythormones était très significatif p<0.001 (Tableau 1), en effet l'ajout du cytokinine BAP (à 2$mg.L^{-1}$ et 4$mg.L^{-1}$) ou AG3 (1$mg.L^{-1}$ et 2$mg.L^{-1}$) ou l'AIB à une concentration de 0,5$mg.L^{-1}$ seul ont permis d'augmenter le taux de débourrement à des taux allant de 60% à 80% par rapport au témoin, Il ressort de cet essai également que la combinaison du BAP (2 $mg.L^{-1}$) avec l'AIB (0.5 $mg.L^{-1}$) dans le milieu de culture était le mieux favorable à la formation des pousses, en effet, avec cette combinaison, le taux de réponse des explants est maximal et il atteint 93.33 % (figure 1 ; tableau 1).Les résultats ont montré également que la présence d'AG3 dans le milieu de culture est essentielle pour l'élongation des pousses néoformés avec une concentration optimale de 2 $mg.L^{-1}$. Le nombre moyen des feuilles le plus élevé est enregistré sur le milieu (M7) contenant 2$mg.L^{-1}$ BAP + 0.5 $mg.L^{-1}$ AIB.

2- Effet d'$AgNO_3$ sur la qualité et la multiplication de l'arganier

Figure 3 : A : aspect des pousses développées sur milieu additionné d'AgNO3 ; B : aspect des pousses développées sur le milieu sans $AgNO_3$ après 20 jours de culture.

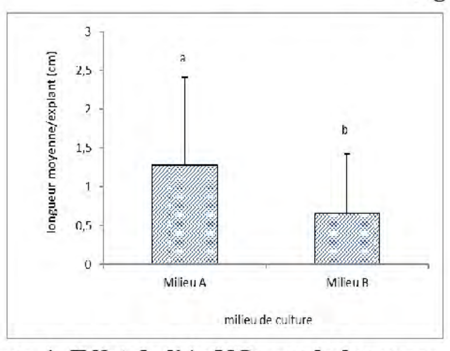


Figure 4: Effet de l'$AgNO_3$ sur la longueur moyenne (cm) des pousses ; Milieu A : milieu MS additionné d'$AgNO_3$; Milieu B : milieu MS sans $AgNO_3$.

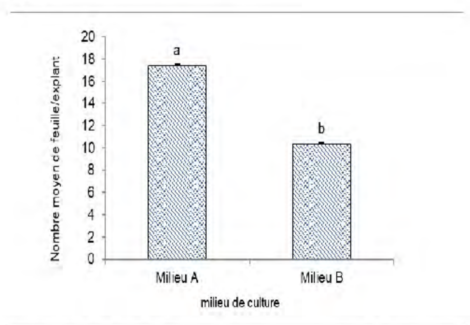


Figure 5: Effet de l'$AgNO_3$ sur le nombre moyen de feuilles/ explant ; Milieu A : milieu MS additionné d'$AgNO_3$; Milieu B : milieu MS sans $AgNO_3$

L'analyse visuelle de l'aspect qualitatif des explants obtenus après 20 jours de culture sur des milieux de multiplications MS contenant ou non d'$AgNO_3$, a montré que les vitroplants générés sur les milieux contenant le nitrate d'argent sont vertes et en bonne état. Par contre les vitroplants issus de la multiplication sur les milieux dépourvus d'$AgNO_3$ ont connu un jaunissement et une chute massive des feuilles après un certain temps de culture (figure 3).

3- Rhizogenèse

Tableau 2: Effet des milieux sur l'enracinement des microboutures d'arganier après 30 jours d'induction et 20 jours d'élongation

Milieu de base	Taux d'enracinement en %	Nombre moyen de racines/explant	Taille moyenne de racines (cm)
M/2	$50±9.12^{a}$	$7.5±0.64^{a}$	$4.12±0.37^{a}$
M	$25±2.88^{b}$	$3.5±0.28^{b}$	$2.13±0.37^{b}$

Figure 6: Racines obtenu sur milieu M/2 ; a : 10 jours dans un milieu d'induction ; b : 20 dans un milieu d'induction ; c : 15 jours dans un milieu d'élongation ; d-e :30 jours dans un milieu d'élongation

Les résultats obtenus (tableau 2) montrent que les deux milieux (M et M/2) permettent l'induction des racines chez les microboutures d'arganier, les meilleurs résultats ont été obtenus sur un milieu M/2 avec un taux d'enracinement de 50% et un nombre moyen de racine de 7.5, les racines développées sont saines et de bonne qualité d'une longueur moyenne de 4.12 cm (figure 6). Alors que le milieu MS donne un taux d'enracinement plus bas de 25% avec 3.5 racines /explant.

CONCLUSION

En conclusion, nous avons pu mettre en évidence un certain nombre de facteurs ayant favorisés le développement des bourgeons axillaires des microboutures prélevées sur des pieds âgés de l'arganier. En effet, le succès de cette technique chez cette espèce est influencé par plusieurs facteurs dont le milieu de culture et la présence de phytohormones. Ainsi un protocole efficient permettant la multiplication et l'enracinement de l'arganier à partir du matériel adulte a été mis au point avec un taux important.

Références bibliographiques

1. Lefhaili, A., (2014) Global Forest Resources Assessment, Country Report Morocco. FAO, Rome.
2. Amghar, I., Diria, G., Boumlik, I., Gaboun, F., Iraqi, D., Labhilili, M., Mentag, R., Meziani, R., Mazri, M.A., Ibriz, M., & Abdelwahd, R., (2021a). An efficient regeneration pathway through adventitious organogenesis for the endangered *Argania spinosa* (L.) Skeels .Vegetos. 34:355–367
3. Murashige, T. and Skoog, F., (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures Physiol. Plant. 473-497.
4. Amghar I., Ibriz M., Ibrahimi M., Boudra A., Gaboun F. , Meziani R. , Iraqi D., Mazri A. M. Diria G. & Abdelwahd R. (2021b). In Vitro Root Induction from Argan (Argania spinosa (L.) Skeels) Adventitious Shoots: Influence of Ammonium Nitrate, Auxins, Silver Nitrate and Putrescine, and Evaluation of Plantlet Acclimatization. Plants.10,1062.

المملكة المغربية
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

ANEF
الوكالة الوطنية للمياه والغابات
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المؤتمر الدولي للأركان

ⵓⵔⴳⴰⵏ ⴰⵎⴰⵏⵉⵏ ⵏ ⵓⵔⴳⴰⵏ

7ème édition

الصويرة
Essaouira
10>12 ماي 2024
10>12 Mai 2024

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⵓⵔⴳⴰⵏ ⵎⵉⵣⵍ ⵏ ⵜⵓⵏⵏⵓⵏⵜ ⵏ ⵜⵉⵣⵉⵣⵜ

Contribution à l'étude de l'effet du choc thermique sur la germination de l'arganier

Salaheddine ESSAGHI [1], Mohammed YESSEF [1], Mohamed OUAJDI [2], Nuxi MARO [1], Salwa EL ANTRY [2], Hayat OUBRAHIM [2], Jalila AOUJDAD [2], Najib MAGRI [2], Ilham BELKHO [1]

[1] Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, BP 6202, Rabat-Instituts, 10101 Rabat, Maroc; [2] Agence Nationale des Eaux et Forêts, Centre d'Innovation, de Recherche et de Formation Forestières, Av. Omar Ibn Al Khattab, Rabat 10080, Maroc.

1-Introduction/Problématique

La régénération de l'arganeraie est indispensable dans un contexte de multiples pressions anthropozoogènes. Néanmoins, la régénération naturelle, de même que la production des plants en pépinière sont compromises par divers facteurs qui limitent la germination, dont la dormance et les contaminations des graines. Par conséquent, il s'avère nécessaire de développer des méthodes capables de contourner cette déconvenue. Le traitement des graines par choc thermique serait une méthode intéressante à tester suite à des résultats concluants obtenus chez d'autres espèces d'arbres.

2- Méthodologie

Test de flottaison

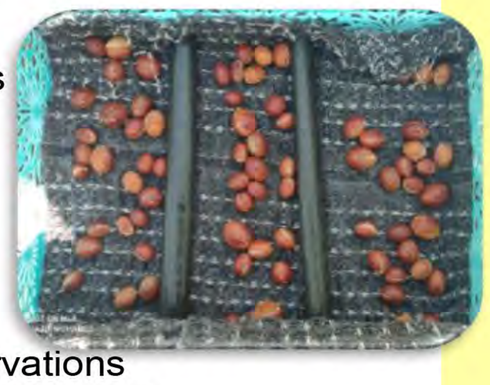
975 noix d'argan (périmètre de Boushab, forêt de Mesguina, Agadir Ida-Outanane)

Choc thermique

4 températures (60, 90, 120 et 150°C) couplées avec 3 durées d'exposition (1, 5 et 15 minutes).
+ échantillons témoins

Essais de germination

Méthode des serpillères



Observations tous les 2 jours

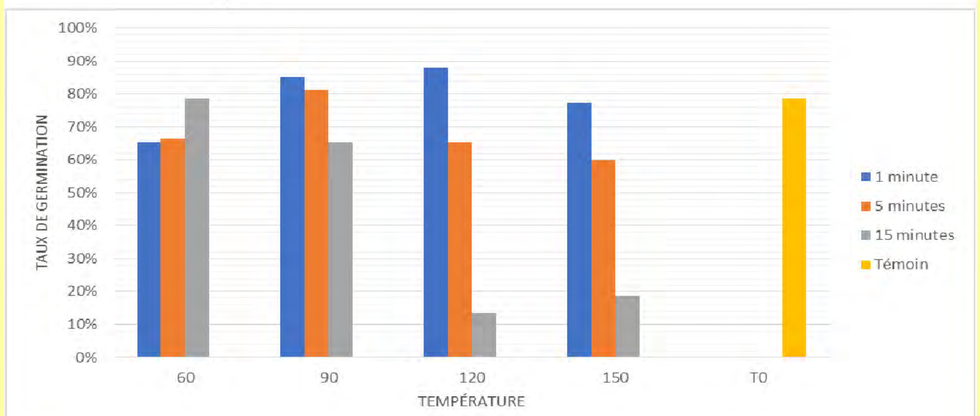
Germination:
✓Taux;
✓Vitesse;
✓Durée moyenne.

3- Analyse et résultats

Les taux de germination obtenus suite aux traitements « 90°C; 1 min », « 90°C; 5 min » et « 120°C; 1 min » étaient supérieurs à ceux des témoins. Ils ont gagné respectivement 6%, 2% et 9% de plus.
Les noix soumises aux températures de 120 et 150°C pendant 15 min ont présenté les taux de germination les plus significativement bas (13 et 19% respectivement).
Les germinations des graines soumises aux traitements « 90°C; 1 min », « 90°C; 5 min » et « 120°C; 1 min » étaient significativement les plus rapides (68 à 83%) et plus rapides que les témoins (52%).
Les traitements « 60°C; 1 min », « 120°C; 15 min » et « 150°C; 15 min » ont enregistré significativement les germinations les plus lentes (<43%).

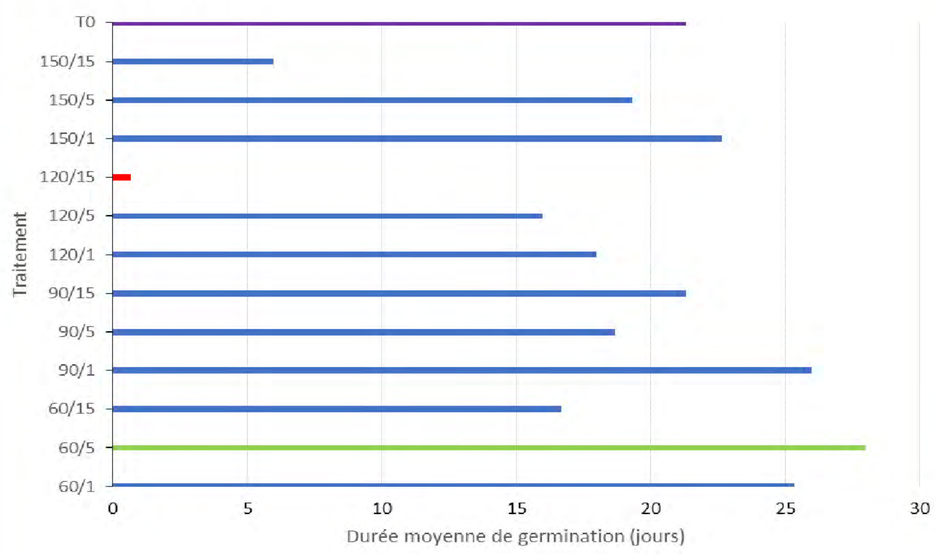
4- Illustration

Taux de germination en fonction de la température et de la durée d'exposition



5- Illustration

Durée moyenne de germination par traitement au choc thermique



TO: témoins

6- Conclusion

Le traitement par choc thermique entre 90°C et 120°C pendant une minute améliore les caractéristiques de germination. Les traitements aux températures 120 et 150°C pendant 15 minutes étaient caractérisés par les taux de germination (13% et 19%) et vitesse de germination les plus bas (13 et 19%). Toutefois, la durée de germination (2 jours et 6 jours) et le temps de latence (0%) étaient réduits. L'application de ces traitements détériore drastiquement la capacité germinative et la capacité d'émergence des graines.
Une mise en culture des graines s'avère intéressante afin d'évaluer l'effet des traitements par choc thermique à plus long terme. Il serait, donc, judicieux de cerner la levée des graines ainsi que la croissance des plants en vue de déterminer l'utilité du traitement au choc thermique dans la régénération de cette espèce noble.

7- Remerciements

Les auteurs remercient le Centre de Recherche Forestière (Département des Eaux et Forêts) pour avoir mis à leur disposition les installations, équipements et consommables de sa pépinière forestière dans le but de réaliser le présent travail.

E-mail: s.essaghi@iav.ac.ma

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المؤتمر الدولي للأركان

ⵓⵙⵙⵓⵍ ⵓⵎⵓⴹⵏⵉ ⵍⵓⵔⵙⵉ

7ème édition

الصويرة
Essaouira
10>12 ماي 2024
10>12 Mai 2024

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⵓⵔⵙⵉ ⵎⵉⴷⴰ ⵏ ⵜⵓⵏⵏⵏ ⵏ ⵜⵏⵙⴷⵜ

ANEF
الوكالة الوطنية للمياه والغابات
ⵜⵓⵏⵏⵓⵔⵜ ⵜⵉⵏⵎⵓⵔⵜ ⵏ ⵍⵎⵎⵓⵏ ⴷ ⵜⵉⵏⵎⵓⵔⵉⵏ
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

CENTRE INNOVATION RECHERCHE ET FORMATION

MARRAKECH
جامعة القاضي عياض
UNIVERSITÉ CADI AYYAD

كلية العلوم السملالية - مراكش
FACULTÉ DES SCIENCES SEMLALIA - MARRAKECH

Evolution du système racinaire des plants d'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) de trois âges différents après transplantation

Miloudi Soukaina[1,2], Aaba Latifa[2], Ait Souabni Siham[2], Ferradous Abderrahim[2], Abbad Abdelaaziz[1] et El Mouden Hassan[1]

[1] : Departement de biologie, Faculté des Sciences Semlalilia, Université Cadi Ayyad
[2]: Centre d'Innovation, Recherche et Formation Forestière de Rabat (CIRF), Centre Régional de Marrakech CIRFM

Contexte et objectifs de l'étude:

Les déformations racinaires entravent la reprise des plants d'arganier en périmètres de reboisement surtout l'enroulement des racines ou ce qu'on appelle communément le chignon. Chez l'arganier, avant la levée de la graine, la racine atteint déjà le bas du conteneur. L'enroulement est inévitable surtout avec un long séjour en pépinière.

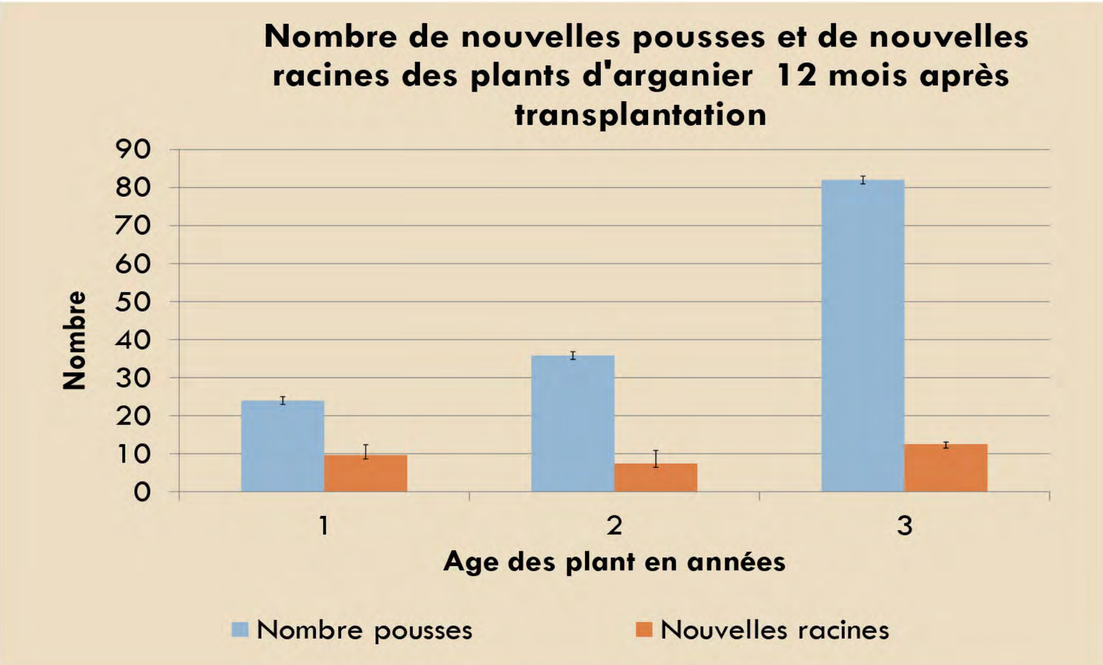
L'objectif de ce travail est de suivre le développement des systèmes racinaires de plants d'arganiers de trois âges différents pour évaluer les effets de ces enroulements sur le développement des plants après transplantation.

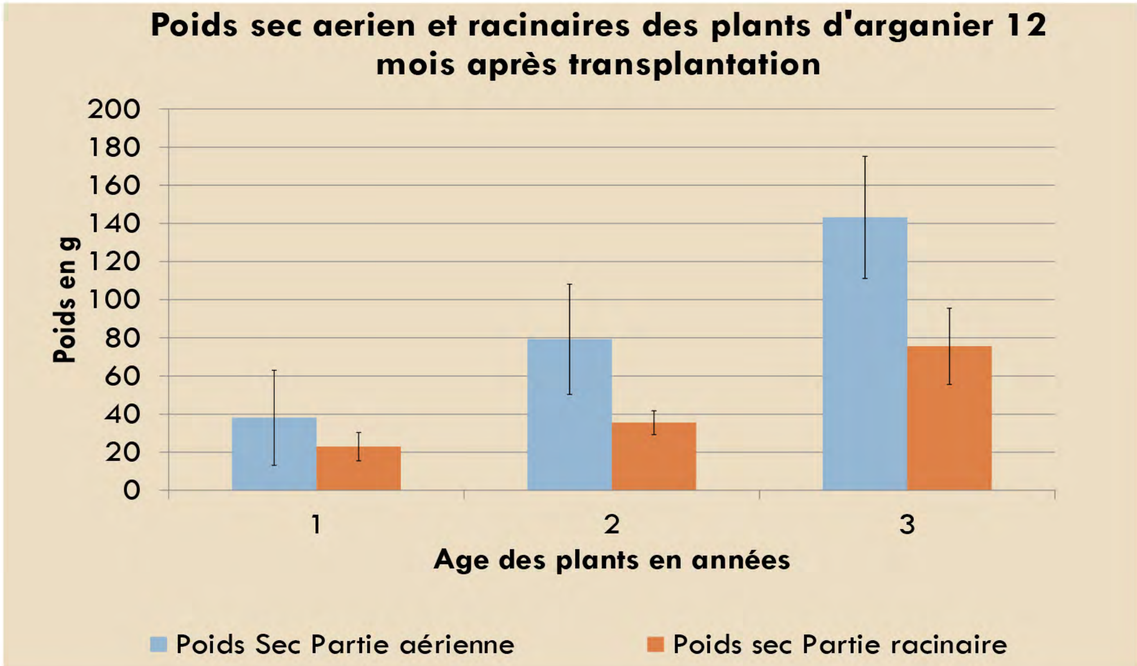
Aspects des plants avant à la sortie de la pépinière

Plants d'un an

Plants de deux ans

Plants de trois ans





Aspects des plants 12 mois après transplantation

Plants d'un an

Plants de deux ans

Plants de trois ans

Conclusions:

Malgré la présence d'enroulements au niveau du système racinaire, Les plants d'arganier émettent de nouvelles racines qui permettent la reprise de croissance après transplantation.

Quand les conditions hydriques sont favorables, les plants de 3 ans réagissent mieux et ont une croissance meilleure que celle des plants de 1 et 2 ans.

المملكة المغربية
ⵜⴰⴳⵍⴷⵉⵜ ⵏ ⵍⵎⵖⵔⵉⴱ
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

ANEF
الوكالة الوطنية للمياه والغابات
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المؤتمر الدولي للأركان

ⵓⵙⵙⵓⵍ ⵓⵎⵓⴹⵏⵉ ⵍⵓⵙⵙⵉ

7ème édition

الصويرة
Essaouira
10>12 ماي 2024
10>12 Mai 2024

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⵓⵙⵙⵉ ⵎⵉⴷⴰ ⵏ ⵜⵙⵏⵏⵉ ⵏ ⵜⵉⵣⵣⵉⵣⵜ

Nouvel outil de performance pour la sélection chez l'*Argania spinosa* L. Skeels : Plasticité phénotypique des feuilles chez des génotypes sélectionnés, en réponse à l'impact environnemental

Siham Oumouss, Ilham Rahmouni, Ghizlane Tobi, Mohammed Bouksaim, Yasmina El Bahloul*

Unité de Recherche en Amélioration des Plantes Conservation et Valorisation des Ressources Phytogénétiques Centre Régional de la Recherche Agronomique de Rabat, IN-RA- Maroc.

** Coordination du programme de recherche Email: yasmina.elbahloul@inra.org.ma*

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

1-Introduction

La plasticité phénotypique est le reflet du comportement variable des génotypes face aux différentes conditions environnementales.

L'étude de l'interactif de l'arganier avec son environnement est jugé utile à fin d'élucider les réponses d'adaptation, exprimées au niveau de la forme et la taille des feuilles, comme l'organe le plus sensiblement influencé par les contraintes de l'environnement.

2- Matériels et Méthodes

Trois sites géo-climatiquement contrastés ont été choisis au Maroc

- Nord-Ouest
- Centre
- Sud-Ouest

Logiciels de la série TPS ont été utilisés pour la caractérisation des feuilles

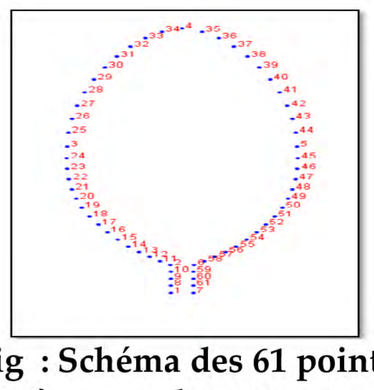


Fig : Schéma des 61 points de repère pour les mesures géo-morphométriques des feuilles

3- Analyse et résultats

Nord-Ouest

Climat sub-humide : Feuilles elliptiques et larges

Centre

Climat semi-aride : Feuilles de petite taille avec des limbes étroits

Sud-Ouest

Climat aride: Feuilles de grande taille et présentent principalement une forme ovale

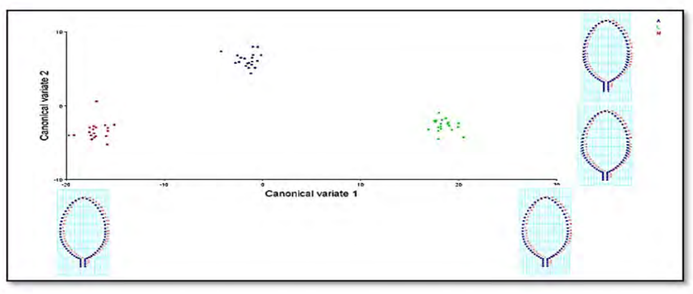


Fig : Projection des individus selon les variables canoniques extraites par l'Analyse des Variations Canoniques (AVC). CV1 et CV2 expliquant 91,65% de la variance totale

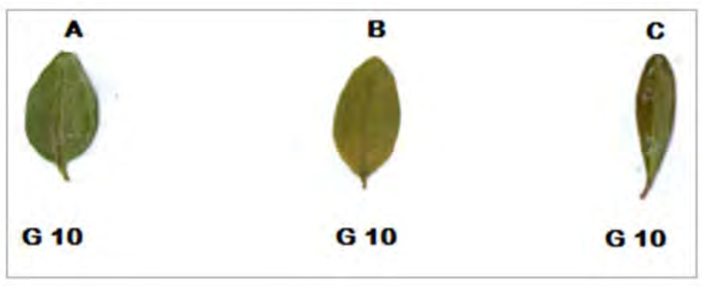


Fig : Variation morphologique des feuilles du génotype 10 à travers les trois stations, A : Site central ; B : Site du Nord-Ouest ; C : Site du Sud-Ouest

5- Conclusion

- **L'interaction G x E sur la morphologie des feuilles de l'arganier a été bien démystifiée dans la présente étude, il s'agit d'un impact important à prendre en considération dans les programmes de sélection spécifique ou à large adaptation de l'arganier.**
- **Les résultats escomptés vont contribuer, sans doute, à une valorisation et une évaluation de l'arganier,**

المملكة المغربية
ⵜⴰⴳⵍⴷⵉⵜ ⵏ ⵍⵎⵖⵔⵉⴱ
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

الوكالة الوطنية للمياه والغابات
ANEF
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL
ARGANIER
المــؤتــمــر الــدولـــي للأركـــان

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجــر الأركــان فــي مواجهــة التغيــر المناخــي

Argan tree facing the challenge of climate change

7ème édition
الصويـرة
Essaouira
2024 ماي 12<10
10>12 Mai 2024

Institut National de la Recherche Agronomique

Faculté Pluridisciplinaire de Nador

Exploitation of the Rhizosphere of Argan Trees and Tomatoes from the Sous-Massa Region in Biological Control

FIRAOUNI Abderrahim[1,2*], QESSAOUI Redouan[2], CHAFIKI Salahddine[2,3], CHABBI Naima[2,5], MAHROUG Abdelmalek[2,4], AITABD Naima[2], TAHIRI Abdeghani[2], ABERKANI Kamal[1] and BOUHARROUD Rachid [2].

[1]Multidisciplinary Faculty of Nador, University Mohammed First P.O.Box 300, Selouane, Morocco.

[2]Regional Center for Agricultural Research of Agadir, National Institute of Agricultural Research, Avenue Ennasr, PoB 415 Rabat Principale, Rabat 10090, Morocco.

[3]AgroBioSciences Plant Stress Physiology Laboratory (AgBS), Mohammed VI Polytechnic University (UM6P), Benguerir, 43150 Morocco.

[4]Laboratory of Biotechnology and Valorization of Natural Resources, Faculty of Sciences - Agadir, Ibn Zohr University, BP 8106, 80000 Agadir, Morocco.

[5]Center of Agrobiotechnology and Bioengineering, Cadi Ayyad University (UCA), Marrakech, Morocco.

* Correspondance : abderrahimfir@gmail.com

Abstract

La tomate est l'un des légumes les plus importants et largement consommés dans le monde. Cependant, sa culture est souvent menacée par des ravageurs et des maladies. Pour lutter contre ces menaces, l'utilisation de pesticides chimiques est courante, ce qui soulève des préoccupations en matière de sécurité alimentaire et d'environnement. Cette étude se concentre sur l'isolement, la caractérisation et l'application d'isolats de bactéries, d'actinomycètes à partir du sol rhizosphérique de l'Arganier. Les résultats montrent que 15 isolats d'actinomycètes ont été isolés et caractérisés en fonction de leurs caractéristiques macroscopiques, de leur coloration de Gram, de leurs tests catalase et oxydase, de leur capacité d'hydrolyse d'amidon, et d'autres tests biochimiques. Efficacité de ces isolats a été évaluée en confrontant leur potentiel de biocontrôle contre les pathogènes Botrytis cinerea. Les résultats ont révélé des différences significatives dans l'efficacité des isolats d'actinomycètes contre Botrytis cinerea. Les isolats AC1, AC9, AC11 et AC14 se sont particulièrement distingués en présentant un taux d'inhibition de plus de 25%, soulignant les perspectives de leur utilisation dans l'agriculture et le biocontrôle. Les profils enzymatiques des isolats ont été évalués, révélant une gamme variée d'activités enzymatiques. Ces résultats mettent en lumière le fort potentiel de ces isolats bactériens en tant qu'agents biologiques pour le contrôle efficace des maladies dans l'agriculture, notamment dans la lutte contre Botrytis cinerea sur les cultures de tomates.

Mots-clés : actinomycètes, Arganier, biocontrôle, activité enzymatique, agriculture durable.

Introduction

La production agricole mondiale est constamment menacée par un ensemble de maladies et de ravageurs, dont certains sont responsables de pertes économiques considérables. Parmi ces menaces, la pourriture grise causée par le botrytis (*Botrytis cinerea*) qui s'est avéré particulièrement destructeur pour la culture de la tomate (*Solanum lycopersicum*). Ce pathogène peut entraîner des pertes de rendement significatives et nécessite souvent l'utilisation de pesticides chimiques pour le maîtriser (Nakajima and Akutsu, 2014). Cependant, l'utilisation excessive de ces produits chimiques a soulevé des préoccupations environnementales et de santé publique, soulignant le besoin d'approches alternatives et durables pour la protection des cultures. Les microorganismes, en particulier certaines bactéries, ont émergé comme des candidats prometteurs dans la lutte biologique contre ces pathogènes (Nassira, 2012) . La rhizosphère des plantes est un réservoir naturel de divers microorganismes, dont des actinomycètes qui ont montré un potentiel en tant qu'agents de biocontrôle (Lugtenberg and Kamilova, 2009). Ce projet de recherche se concentre sur l'isolement et la caractérisation de bactéries actinomycètes provenant de la rhizosphère de l'arganier. Ces bactéries sont évaluées pour leur efficacité potentielle dans la lutte contre le botrytis. Le présent projet vise à fournir une évaluation de l'efficacité de ces bactéries contre les pathogènes ciblés, en utilisant des tests de confrontation in vitro et in vivo. En outre, ce travail de recherche se penche sur les mécanismes d'action sous-jacents qui permettent à ces microorganismes de réduire l'incidence de ces maladies dévastatrices. Cette étude contribue ainsi à l'élargissement des connaissances sur l'importance de la rhizosphère de l'Arganier dans le domaine de la lutte biologique et à l'exploration de solutions durables pour la protection des cultures de tomate, tout en minimisant l'impact environnemental et en préservant la santé publique.

Matériel et méthodes

Isolement et caractérisation des bactéries antagonistes

Les isolats bactériens d'Actinomycètes ont été isolés à partir de la rhizosphère de l'Arganier dans le domaine expérimental de l'INRA Layoune, dont les coordonnées sont [27.1961117021247, -13.342333506632324]. Les échantillons ont été prélevés à une profondeur de 25 cm dans le sol, en utilisant la méthode des dilutions (Kumari et al., 2018). Les isolats obtenus ont été soumis à un processus de purification et de caractérisation. La caractérisation a inclus des tests de Gram, de catalase et d'oxydase, ainsi que des observations macroscopiques et microscopiques. De plus, l'hydrolyse de l'amidon et hydrolyse de la gélatine.

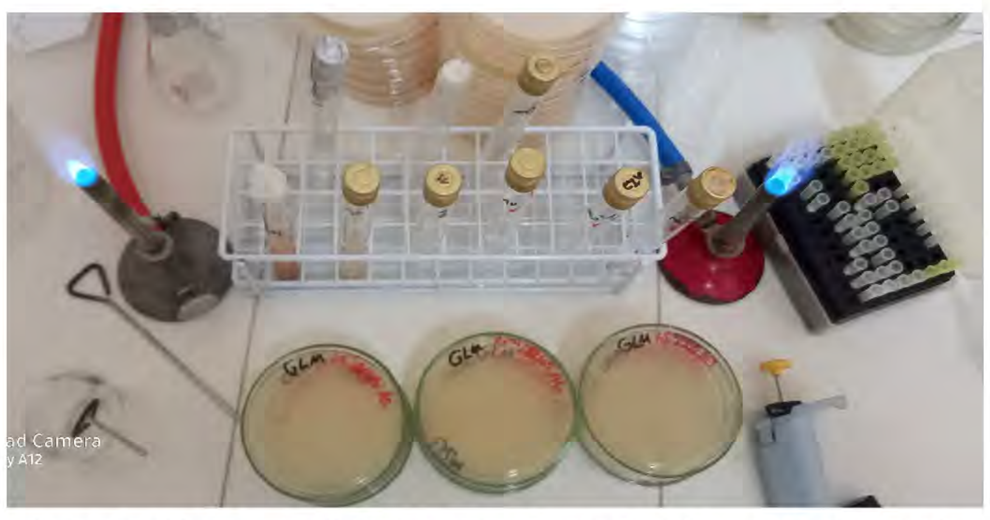


Figure 1 :Méthode de dilution pour isoler les bactéries de la rhizosphère de l'arganier.

Évaluation in vitro du potentiel antagoniste des bactéries isolées

Pour la confrontation contre le botrytis cinerea, les isolats ont été déposés à une distance de 30 mm du centre de chaque boîte de Pétri, avec quatre répétitions par bactérie, sur un milieu de culture composé de 50 % de PDA (Potato Dextrose Agar) et 50 % de gélose nutritive. Après l'incubation à une température de 30°C pendant 7 jours, un disque de champignon, préalablement repiqué et incubé à 20 °C pendant 7 jours, a été disposé au centre de chaque boîte de test puis incubée dans une étuve pendant 8 jours à une température de 20°C. Ensuite, des mesures de la longueur de propagation des mycéliums en millimètres ont été effectuées tous les deux jours d'incubation sur le milieu de culture afin d'évaluer la croissance du champignon. Le potentiel antagoniste de chacune des deux bactéries a été évalué en calculant le pourcentage d'inhibition par la formule suivante : %I = (1- Cn/Co) *100 avec %I : pourcentage d'inhibition ; Cn : croissance du champignon témoin ; Co : croissance du champignon en control (Lahmyed et al., 2021).

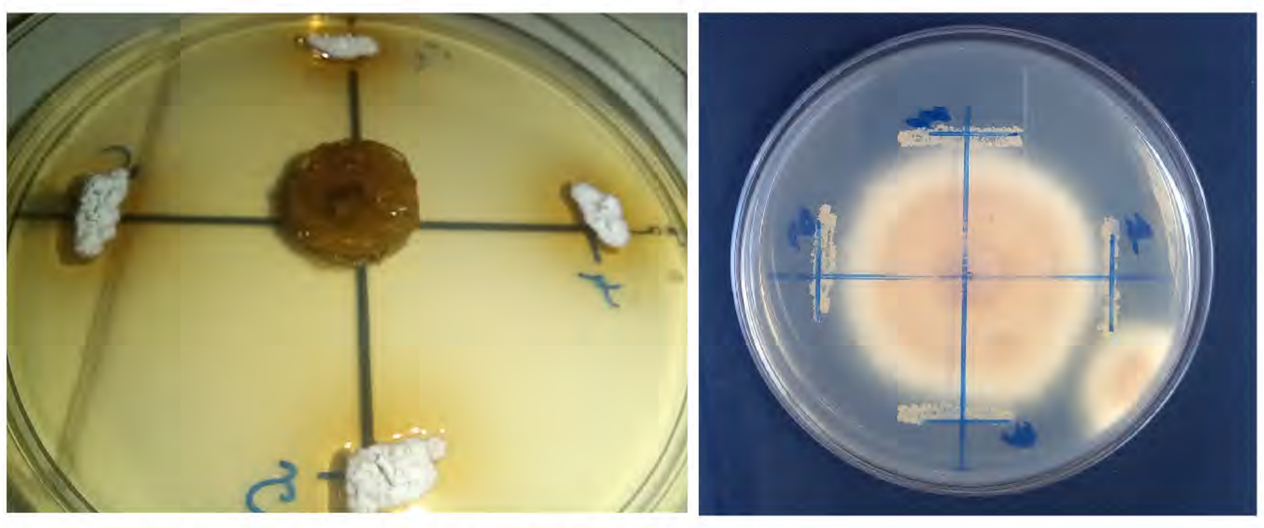


Figure 2 : La confrontation in vitro contre Botrytis cinerea.

Résultats & discussion

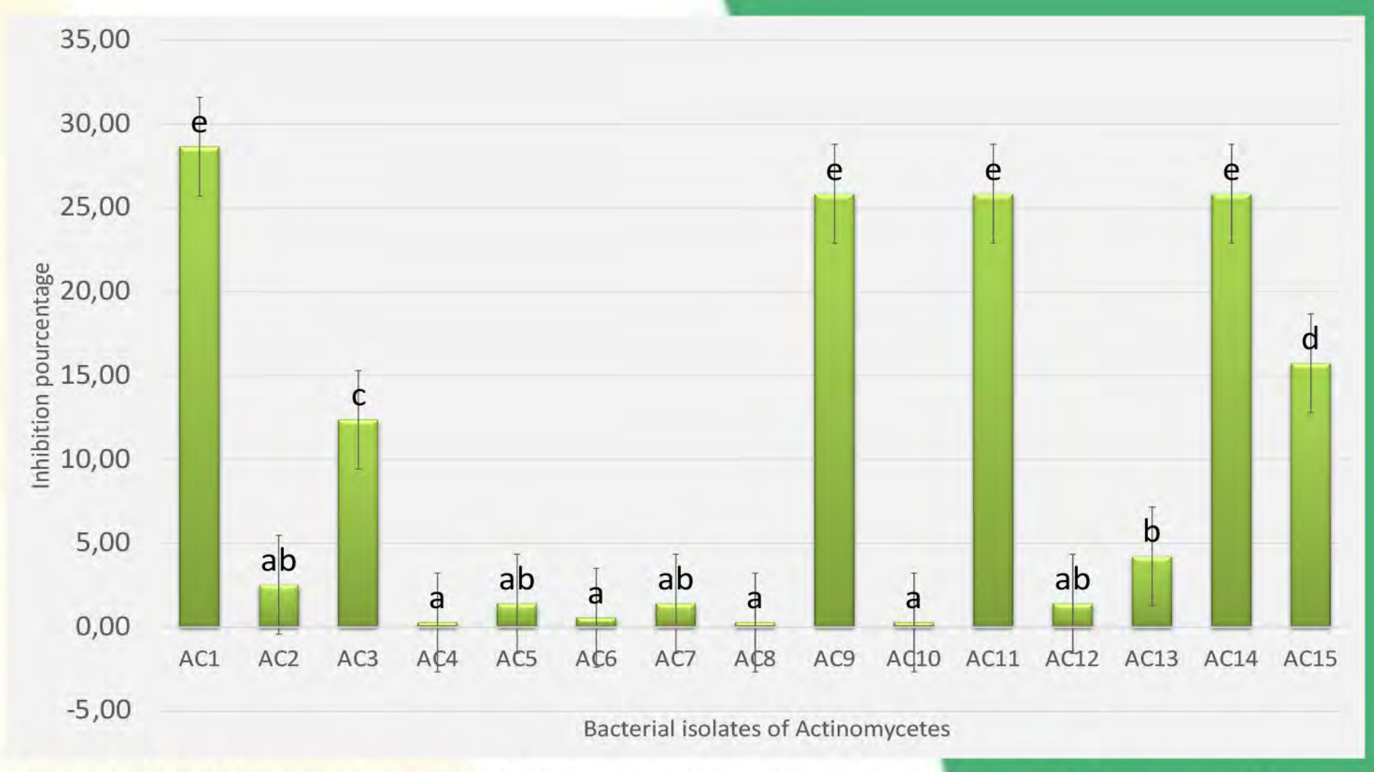


Figure 3 : l'histogramme représentant les pourcentages d'inhibition des isolats d'actinomycètes.

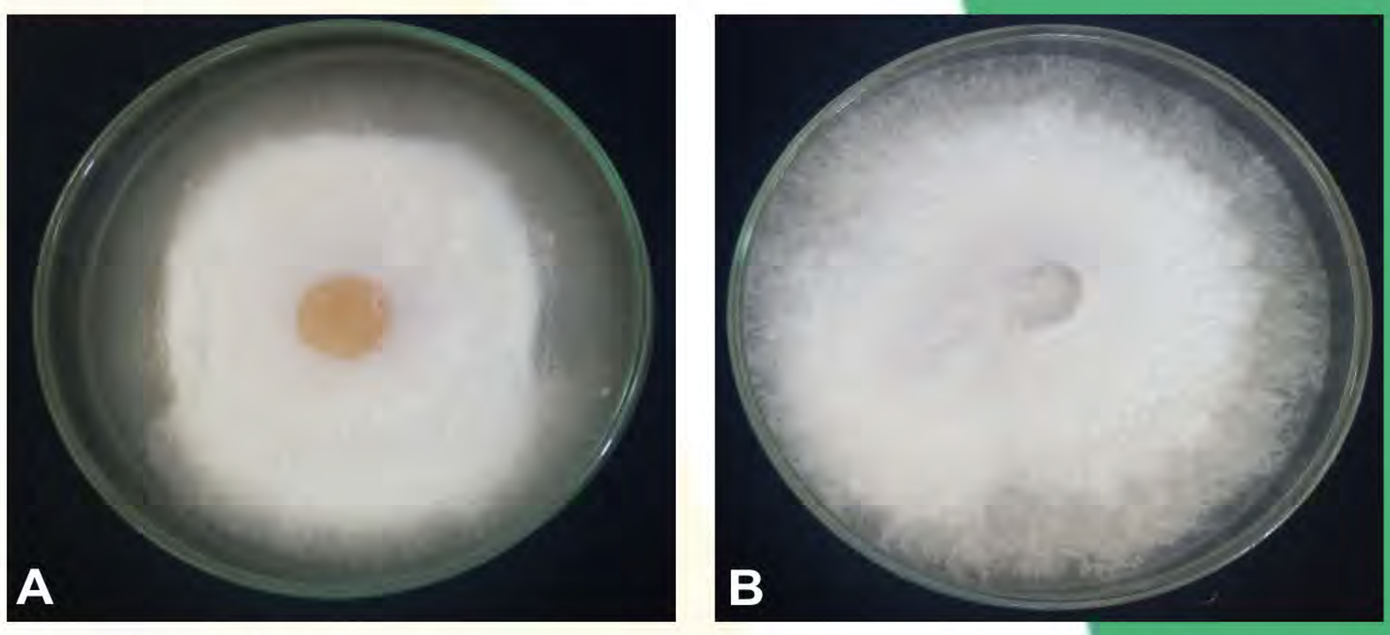


Figure 4 : Activité antagoniste d'une souche d'actinomycètes contre Botrytis cinerea, (A) : test ; (B) Témoin

Les résultats de test (Figure 3 et 4) démontrent que parmi les isolats, AC1, AC9, AC11 et AC14 ont particulièrement attiré l'attention en présentant un taux d'inhibition significatif de Botrytis. Ces observations dénotent un fort potentiel de biocontrôle au sein de certains isolats d'actinomycètes spécifiques. La corroboration de ces résultats avec d'autres études similaires (Lahmyed et al., 2021) renforce la validité et la portée de ces constatations. Une analyse comparative avec des travaux antérieurs permet de contextualiser ces découvertes dans le paysage plus large de la recherche sur le biocontrôle. En effet, la démarcation de certains isolats comme étant particulièrement efficaces contre Botrytis suggère la présence de mécanismes spécifiques de suppression du pathogène. Cette constatation revêt une importance cruciale des microorganismes rhizosphériques de la plante d'Arganier dans le domaine de l'agriculture durable, indiquant que ces isolats d'actinomycètes pourraient être des agents potentiels de protection des cultures de tomates contre Botrytis. Cette approche de biocontrôle offre une alternative prometteuse aux méthodes classiques et conventionnelles de lutte contre les maladies, en contribuant à des pratiques agricoles plus respectueuses de l'environnement et durables. Ces résultats ouvrent ainsi la voie à des recherches futures visant à exploiter pleinement le potentiel de ces actinomycètes dans la protection des cultures agricoles.

Conclusion

En conclusion, la délimitation de certains isolats comme étant particulièrement efficaces contre Botrytis suggère la présence de mécanismes spécifiques de suppression des pathogènes. Cette découverte revêt une importance cruciale pour les microorganismes rhizosphériques de l'arganier dans le domaine de l'agriculture durable, indiquant que ces isolats d'actinomycètes pourraient servir d'agents potentiels pour protéger les cultures de tomates contre Botrytis.

المملكة المغربية
Royaume du Maroc
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

ANEF
الوكالة الوطنية للمياه والغابات
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المؤتمر الدولي للأركان

ⵓⵙⵙⵓⵍ ⵓⵎⵓⴹⵏⵉ ⵍⵓⵔⴳⴰⵏ

7ème édition

الصويرة
Essaouira
2024 ماي 12<10
10>12 Mai 2024

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⵓⵔⵖⴰⵏ ⵎⵉⴷⴰ ⵏ ⵜⵙⵏⵉⵏⵜ ⵏ ⵜⵉⵣⵉⵣⵜ

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER المؤتمر الدولي للأركان

Contribution à l'étude de la germination et de la levée des graines d'arganier (Argania spinosa L.) en relation avec la forme des noix et leur provenance

Salaheddine Essaghi [1,*], Mohammed Yessef [1], Mohamed Ouajdi [2], Ilham Belkho [1], Salwa El Antry [2], Hayat Oubrahim [2], Jalila Aoujdad [2], Najib Magri [2], Nuxi Maro [1]

[1] Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, BP 6202, Rabat-Instituts, 10101 Rabat, Maroc; [2] Agence Nationale des Eaux et Forêts, Centre d'Innovation, de Recherche et de Formation Forestières, Av. Omar Ibn Al Khattab, Rabat 10080, Maroc; * Correspondance: s.essaghi@iav.ac.ma

Objectif

En vue d'optimiser le choix des graines dédiées à la régénération artificielle, le but principal de ce travail est de tester la germination de différentes formes de noix d'argan au centre de l'aire de répartition naturelle de l'arganier et de suivre leur développement en pépinière en vue de déceler d'éventuelle formes et provenances les plus enclines à produire les meilleurs plants possibles.

Ceci est d'autant plus important qu'il existe une grande diversité des trais morphologiques liée à la forme, au poids et aux dimensions des fruits et des graines qui aurait des effets sur la germination et le développement de plant.

Matériels et méthodes

Mesures des noix et fruits: largeur, longueur, poids + Classes de formes

2167 noix de 3 sites: Agadir Ida-Outanane, Safi, Taroudant

Test de germination

Germination:
- ✓Taux;
- ✓Vitesse;
- ✓Temps de latence

Levée des graines

Levée:
- ✓Taux

Résultats

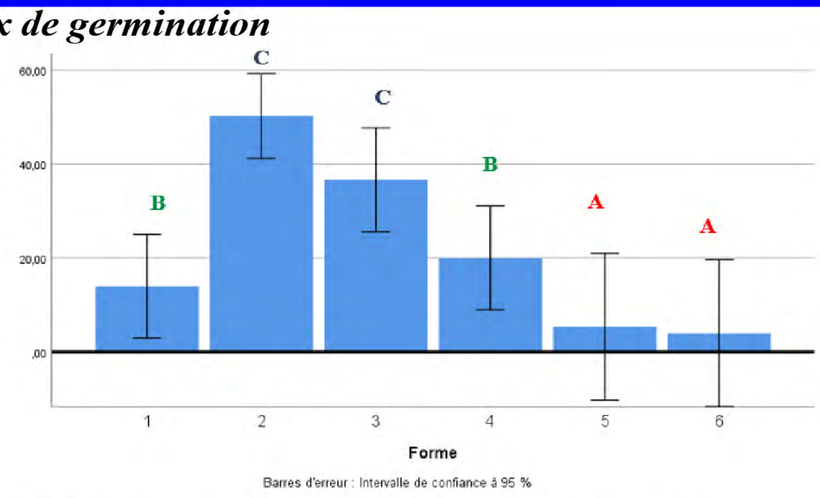
Les trois formes caractérisées par Bani-Aameur et al. (1998)

Forme 1 (étroitement ellipsoïde) — Forme 2 (ovale) — Forme 3 (sphéroïde)

Les trois nouvelles formes caractérisées

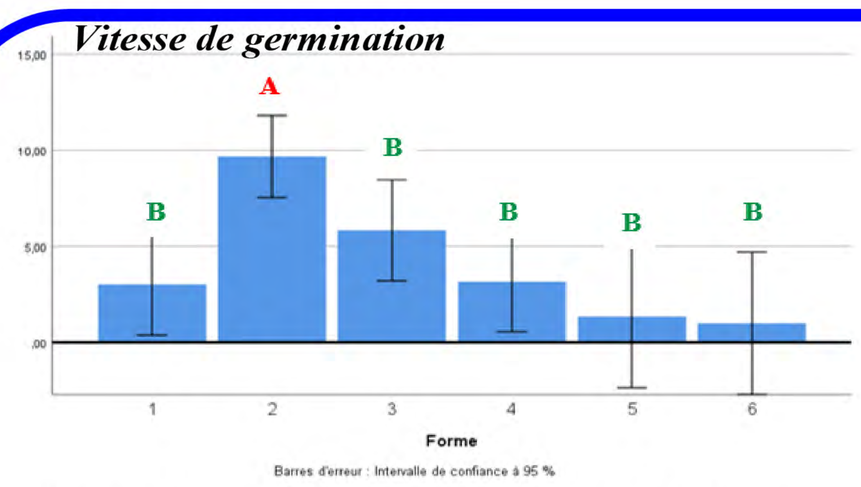
Forme 4 (ovale pointu) — Forme 5 (ellipsoïde truncatée) — Forme 6 (fusiforme)

Taux de germination



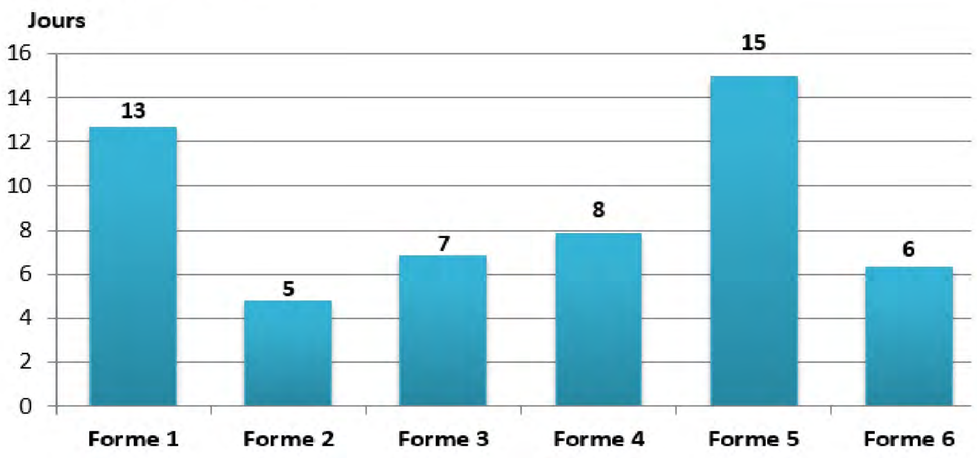
Variation des moyennes de taux de germination selon les formes. L'assignation aux mêmes lettres signifie que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

Vitesse de germination



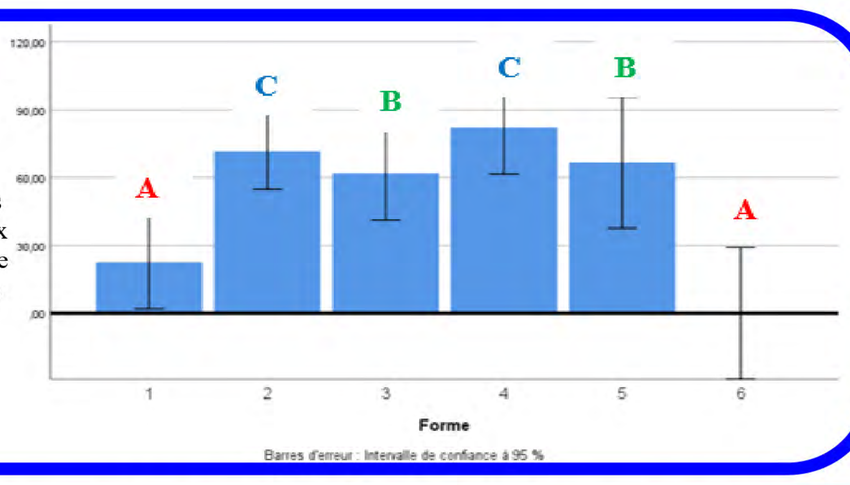
Variation des moyennes de la vitesse de germination selon les formes. L'assignation aux mêmes lettres signifie que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

Temps de latence



Variation des temps de latence selon les différentes formes.

Levée



Variation des moyennes du taux de levée selon les formes. L'assignation aux mêmes lettres signifie que les moyennes ne sont pas significativement différentes.

La provenance n'avait <u>aucune incidence statistiquement significative</u> sur l'ensemble des paramètres observés de la germination et de la levée.

Conclusion: La forme ovale a présenté les meilleurs taux et vitesse de germination (50%; 10 graines par jour), suivie de la forme sphéroïde (37%; 6 graines par jour). La forme ovale a présenté le temps de latence le plus court (5 jours).

Les formes ovale et ovale pointue ont donné des taux de levée les plus élevés (71% et 88% respectivement). Ainsi, il paraît que la forme ovale des noix d'argan est la forme la plus prometteuse en termes de germination et de levée. Ses résultats pourraient être considérées dans la sélection des graines capables d'aboutir à des arbres vigoureux attestant d'une régénération réussie.

المملكة المغربية
ⵜⴰⴳⵍⴷⵉⵜ ⵏ ⵍⵎⵖⵔⵉⴱ
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

الوكالة الوطنية للمياه والغابات
ANEF
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المؤتمر الدولي للأركان

ⵓⵔⴳⴰⵏ ⴰⵎⵓⵏⴰⵏ ⵏ ⵓⵔⵣⴰⵏ

7ème édition

الصويرة
Essaouira
10>12 ماي 2024
10>12 Mai 2024

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⵓⵔⵣⴰⵏ ⵎⵉⵖⵍ ⵏ ⵜⵓⵏⵏⵓⵏⵜ ⵏ ⵜⵉⵣⵉⵣⵜ

Genome of *Argania spinosa* L.: Insights into Oil Production and the Tocopherol Biosynthesis Pathway

Oliver Rupp[1]; Clemens Roessner[2]; Naemi Lederer-Ponzer[2]; Tassilo Erik Wollenweber[3]; Annette Becker[2]; **Mouna Lamaoui[24*]**

Justus-Liebig-University, Institute of botany, Developmental biology of plants, Heinrich-Buff-Ring 38, 35392 Gießen, Germany

*mounalamaoui@gmail.com

INTRODUCTION

Argan (*Argania spinosa* L.) is a highly valued tree for its multiple uses as food and feed and for being linked to a broad range of benefits of pharmaceutical and cosmetic relevance. This multipurpose resource is becoming increasingly overused, which may disrupt the whole ecosystem's sustainability. Due to the high socio-economic status of this tree, research interventions are needed to reverse the forest regressive trend and restore the disturbed ecosystem, and conserve genetic diversity. However, research on argan is restricted by the lack of accessible information on the genetic and genomic bases of the species, specifically a functional annotated genome. Herein, we report the reference transcriptome aided annotation of the argan tree genome using *de novo* gene prediction programs aided by homology information from different plants. The results of the genome annotation using AUGUSTUS were subsequently improved by performing RNA sequencing. A total of 62,590 gene loci could be identified with 82,286 isoforms and a BUSCO completeness of 91.7%. To gain insight into the agronomically important compounds in argan oil, a comparative genome analysis and ortholog identification was performed, followed by phylogenetic tree construction of the main biosynthesis genes. Among those are fatty acids and tocopherols, the latter being the main factor behind the increasing demands for argan oil. Our analysis is the initial step to provide breeders, geneticists, and the industries with adequate genomic information, facilitate improvement of economically important traits and to selectively adapt the tree to the increasing impact of climate change.

OBJECTIVES

1) Provide an annotation for the raw genome and for the easy access for scientific community to perform further studies.
2) Publish a GENDBE platform, allowing the BLAST searches to be performed on the genome.
3) Identify the argan homologs of biosynthetic pathways relevant to its agronomical value with special focus on the tocopherol biosynthesis.

MATERIAL AND METHODS

- Plant material was procured from German botanical gardens (Bonn and Giessen, Germany).
- To annotate the *A. spinosa* genome, the draft genome generated in a previous project (Khayi et al. 2018) was used as a resource to execute a homology-based gene prediction program that combines gene models from multiple reference organisms.
- A computational approach was adopted to annotate the draft argan genome. The annotation was improved through RNA seq.
- A comparative genome analysis, genes identification and phylogenetic analysis were also performed.

RESULTS

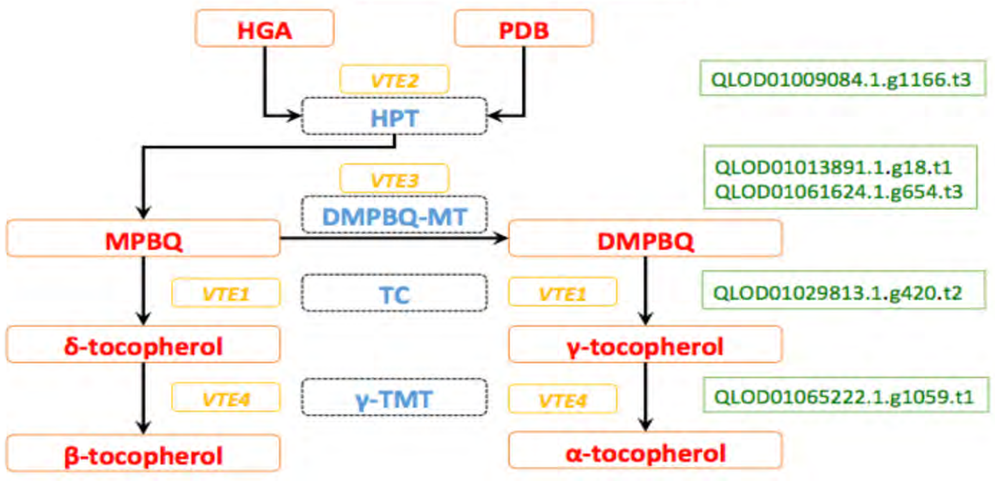


Figure 1: The tocopherol biosynthetic pathway. Enzymes are shown in blue and metabolites in red. The initial prenylation reaction of HGA and PDP is catalyzed by HPT enzyme to form MPBQ. MPBQ is then methylated by MPBQ methyltransferase to form DMPBQ, which can be cyclized by TC and further methylated by γ-TMT to form α-Tocopherol (Savidge et al. 2002). *A. thaliana* genes, encoding the enzymes, are emphasized in yellow. The key biosynthetic genes identified in *A. spinosa* are highlighted in green. PDP: phytyldiphosphate; HGA: homogentisic acid; MPBQ: 2-methyl-6-phytylbenzoquinol; DMPBQ: 2,3-dimethyl-6-phytyl-1,4-benzoquinol; HPT: homogentisate phytyltransferase; MPBQ MT: MPBQ methyltransferase; TC: tocopherol cyclase; γ-TMT: γ-tocopherol methyltransferase.

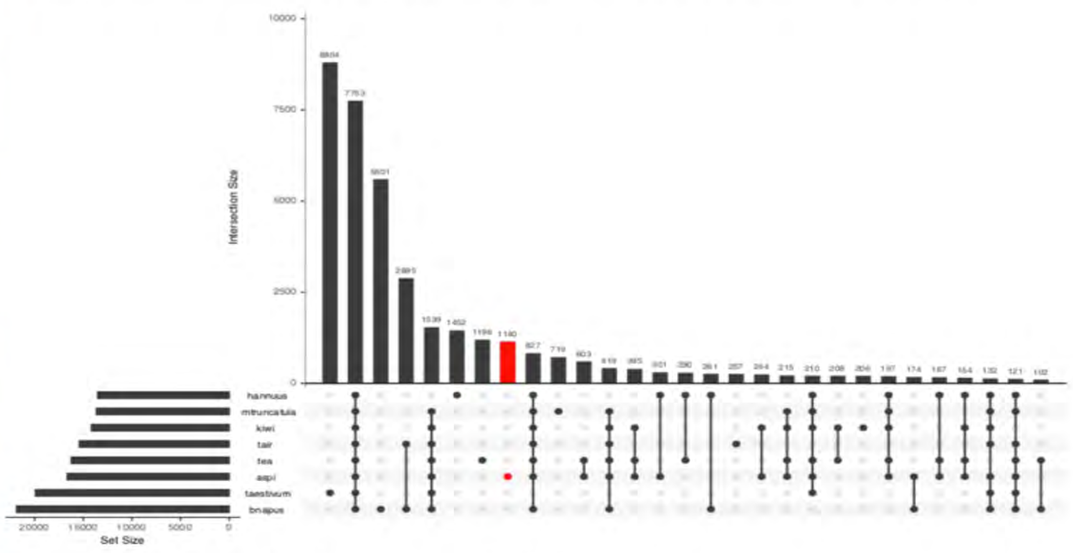


Figure 2: Analysis of orthogroups in *A. thaliana*, *A. chinensis*, *A. spinosa*, *B. napus*, *H. annuus*, *C. sinensis*, *M. truncatula*, and *T. aestivum*) created with UpSet R (Lex et al. 2014). The bars represent the number of orthologous groups (intersection size). The dots symbolize the species included in the intersection. The plot was restricted to intersections with more than 100 groups of orthologous.

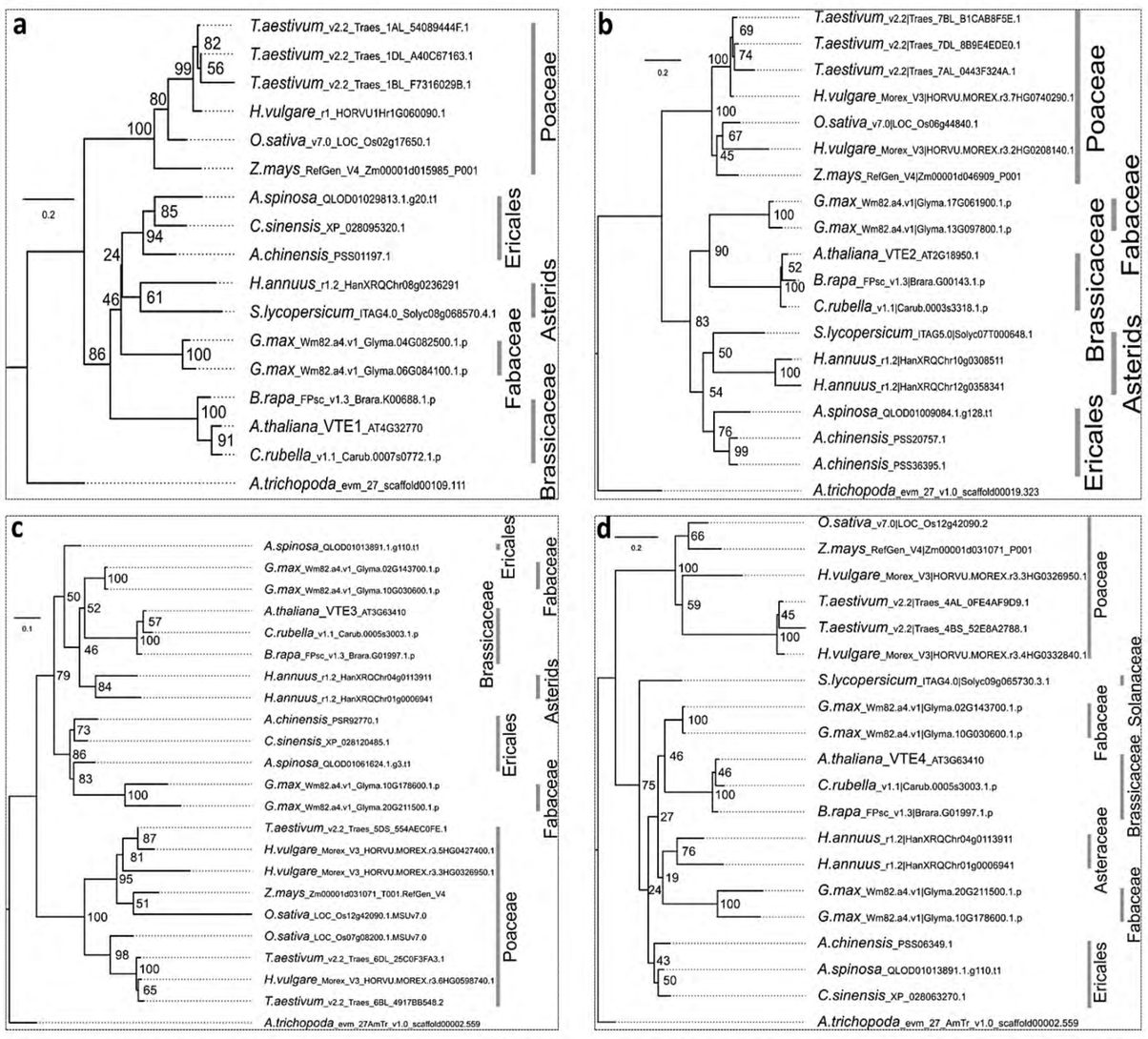


Figure 3: Maximum likelihood phylogeny of Maximum likelihood phylogeny of *VTE 1* (a), *VTE 2* (b), *VTE 3* (c), *VTE 4* (d) -like genes including angiosperm representative with sequenced genomes. Numbers next to branches denote boostrap support of the respective lineage split.

CONCLUSION

- In summary, we present the reference transcriptome annotated argan genome, together with an analysis of homologs of the important biosynthesis genes for oil production and tocopherol biosynthesis genes, in selected species, including oil crops and with a special focus on argan.
- The annotated genome generated in this work could be used as a reference for comprehensive genome-assisted cultivar breeding and genome editing improvements and to revisit any trait in order to elucidate the molecular mechanisms that trigger the relevant metabolic pathways, including the genes involved in cosmetic and pharmacological products.
- Such analyses could contribute to the improvement of argan oil traits and facilitate the development of strategies to breed and domesticate the argan tree through the manipulation of the identified genes.
- The genes identified that are associated with pathways of the main oil components could be used as candidate genes for improvement of both the seed content and quality and to improve plant responses to abiotic/biotic stresses to help them cope with climate change.

DATA AVAILABILITY

GENDBE platform: the genome annotation results of this study can accessed at the argan genome database, https://gendbe.computational.bio.uni-giessen.de/Argania_spinosa.html.

Paper citation: Rupp Oliver; Roessner Clemens; Lederer-Ponzer Naemi; Wollenweber Tassilo Erik; Becker Annette; Lamaoui Mouna (2024). Genome of *Argania spinosa* L.: Insights into Oil Production and the Tocopherol Biosynthesis Pathway. Genetic Resources.

FUNDING

The Alexander von Humboldt Foundation, Germany, funded this work.

المملكة المغربية
ⵜⴰⴳⵍⴷⵉⵜ ⵏ ⵍⵎⵖⵔⵉⴱ
Royaume du Maroc

وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

الوكالة الوطنية للمياه والغابات
ANEF
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL
ARGANIER
المــؤتـمــر الــدولــي للأركـــان
ⴰⵙⵓⵎⵓⵏ ⴰⵎⴰⴹⵍⴰⵏ ⵏ ⵡⴰⵔⴳⴰⵏ

7ème édition
الصويــرة
Essaouira
2024 ماي 12<10
10>12 Mai 2024

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجـر الأركـان فـي مواجهــة التغيـر المناخـي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⴰⵔⴳⴰⵏ ⴷⵉⴳ ⵓⵎⵢⴰⵡⴰⴹ ⴷ ⵓⵙⵏⴼⵍ ⵏ ⵜⵓⵏⵏⵓⴹⵜ

Un nouveau micro-organisme isolé des arbres d'arganiers au Maroc : *Pestalotia populi-nigrae*

Soukaina Maazouzi [1-2*], Amina Ouazzani Touhami[2], Soukaina Msairi [3], Zineb Sellal [2], Karima Selmaoui [2], Allal Douira [2]

1.Institut Supérieur Des Professions Infirmiers Et Des Techniques De Santé (ISPITS) Dakhla, *Correspondance : maazouzisoukaina0@gmail.com ;

2.Laboratoire des Productions Végétales, Animales et Agro-industrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Morocco.

3.Équipe de Botanique et Valorisation des Ressources Végétales et Fongiques, Faculté des Sciences, Université Mohamed V, Rabat, Maroc

Résumé

Au Maroc, *Pestalotia populi-nigrae* a été isolée pour la première fois à partir des plants d'arganiers montrant des symptômes de chlorose, des tâches foliaires, brûlure des aiguilles, brûlure de la pointe, et pourriture des bourgeons. Elles sont formées de 5 cellules fusiformes, trois cellules intermédiaires, et deux cellules apicale et basale, hyalines de forme triangulaire à conique. Les conidies possèdent deux à trois sétules simples (généralement trois) de 33,06 µm de longueur et un pédicelle court de 8,99 µm de longueur.

Mots-clés : Maroc ; *Pestalotia* ; *Pestalotia populi-nigrae* ; chlorose ; conidies.

Introduction

Les espèces fongiques appartenant au genre *Pestalotia* ou *Pestalotiopsis*, sont des Ascomycètes de la famille des Amphisphaeriaceae [1-2]. Ces champignons sont importants, non seulement en raison de leur pathogénicité, mais également en tant qu'endophytes couramment isolés des plantes et qui produisent une large gamme de nouveaux métabolites chimiques [3]. Ils ne sont pas spécifiques, mais présentent la capacité d'infecter une gamme d'espèces végétales [4-5]. Tejesvi et al.[6] ont signalé que les champignons du genre *Pestalotia* s'attaquent aux plantes en hivers, avec une fréquence de colonisation variables en fonction de l'âge de l'espèce végétale ([7-8-9]. Des prospections réalisées dans les arganeraies de la région d'Agadir (Tiznit, Taghazoute), ont permis d'observer des nécroses foliaires, des brûlures des aiguilles et des desséchements des bourgeons de certains arganiers. Dans cette étude, nous avons essayé de déterminer l'agent causal de ces symptômes.

Matériel et méthodes

Des observations effectuées en 2018, dans la région d'Agadir (Tiznit, Taghazoute), ont révélé que des feuilles d'*Argania spinosa* présentent des nécroses foliaires, des brûlures des aiguilles et des desséchements des bourgeons. Sur les feuilles, les symptômes se présentent au début sous forme de petites Tache circulaires de couleur brune de 1 à 2 mm de diamètre, avec parfois des petits boutons noirs qui sont les acervules. Après les feuilles se nécrosent et les bourgeons se dessèchent (Figure 1). Les feuilles présentant les symptômes sont collectées, lavées à l'eau courante, découpées en fragments puis placées stérilement dans des boîtes de Petri contenant trois rondelles de papier filtre (buvard) préalablement stérilisées puis humidifiées à l'eau distillée stérile. Les boîtes sont ensuite incubées sous lumière continue. Après 7 jours, les fragments sont examinés sous microscope optique afin de noter la présence des fructifications des champignons. Les conidies ainsi développées sont transférées une à une sur le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) à l'aide d'un capillaire en verre étiré. Les cultures monosporales réalisées ont été incubées pendant 8 jours à 28° C pour l'identification des espèces.

Figure 1. A, B, C, D : Différents symptômes observés sur les feuilles et les fruits de l'arganier, s: symptômes, a : acervules (photos Zineb Sellal, 2018).

Figure 2. a: les acervules dispersés sur le milieu de culture PDA, b: les conidies de *Pestalotia populi-nigrae* (photos Maazouzi Soukaina,2019).

Résultats et discussion

Cinq espèces fongiques ont été isolées et identifiées : *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp. et *Pestalotia populi-nigrae* . Quatre à six jours après repiquage de cette dernière espèce, les acervules sont apparues sous forme de points noirs dispersés sur le milieu de culture PDA (Figure 2). Les conidies isolées sont observées sous microscope, elles sont de 23,64 µm de long et 9,57 µm de large. Elles sont formées de 5 cellules fusiformes, droites ou légèrement incurvées, parfois légèrement resserrées. Les trois cellules intermédiaires sont versicolores avec deux cellules foncées (brun foncé) et une plus claire (brun jaune). Les deux cellules apicale et basale sont hyalines de forme triangulaire à conique. Les conidies possèdent deux à trois sétules simples (généralement trois) de 33,06 µm de longueur et un pédicelle court de 8,99 µm de longueur (Figure 1). Cette description est conforme à celle donnée par Guba [10]. Il s'agit du premier signalement de *Pestalotia populi-nigrae* causant des nécroses foliaires et des desséchements des bourgeons foliaire chez l'arganier au Maroc. Jeewon et al. [11] et Tejesvi et al. [12] ont montré que les espèces de *Pestalotia* ou de *Pestalotiopsis* présentent une diversité morphologique considérable et que les isolats sont regroupés en fonction de similitudes dans la morphologie conidienne. Hu et al. [13] ont constaté que les caractères des conidies tels que la longueur et la largeur des conidies, la longueur médiane des cellules et la couleur des cellules médianes sont des caractères stables chez les espèces de ce genre. Cependant, la longueur des appendices apicaux et basaux sont variés. En 2009, Bakry et al. [14] ont noté chez les plants de l'arganier se développant au niveau des pépinières, des jaunissements et des nécroses localisés au niveau des pétioles et au niveau de la surface foliaire, ces symptômes développent parfois des acervules noires. Le genre *Pestalotiopsis* ou *Pestalotia* est pathogène, mais considéré comme un parasite faible qui infecte également de nombreuses plantes économiquement importantes telles que Washingtonia (*Pestalotiopsis palmarum*) [15], Olive (*Pestalotia fici*) [16]. Yamni [17] a isolé également *P. cruenta* à partir des feuilles de *Pyrus mamorensis* de la forêt de Maâmora au Maroc et il semble que ce pathogène infecte également *Chamaerops humilis* dans l'écosystème du chêne liège [18].

Conclusion

Les symptômes observés sur les feuilles des arganiers hébergent *Pestalotia populi-nigrae*. Cette espèce fongique a été rencontrée pour la première fois au Maroc sur les arganiers. L'étude du pouvoir pathogène d'une population de *Pestalotia populi-nigrae* semble judicieuse pour connaitre l'importance de ce pathogène au niveau des arganeraies marocaines.

Références bibliographiques

1. Kang, J.C.; Kong R.Y.C.; Hyde K.D. Studies on the Amphisphaeriales. 1. Amphisphaeriaceae (sensu stricto) and its phylogenetic relation-ships inferred from 5.8 S rDNA and ITS2 sequences. Fungal Diversity, 1998, 1: 147–157.
2. Kang, J.C.; Hyde K.D.;Kong R.Y.C. Studies on Amphisphaeriales: the Amphisphaeriaceae (sensu stricto). Mycological Research, 1999, 103: 53–64.
3. Sajeewa, M. ; Liang-Dong, G. ; Ekachai Ch. ; Bahkali, A.H. ; Kevin, D.H. *Pestalotiopsis* morphology, phylogeny, biochemistry and diversity, Fungal Diversity, 2011, 50 :167–187. DOI 10.1007/s13225-011-0125-x
4. Hopkins, K.E.; McQuilken, M.P. Characteristics of *Pestalotiopsis* associated with hardy ornamental plants in the UK. Eur J Plant Pathol, 2000, 106:77–85. DOI: 10.1023/A: 1008776611306
5. Keith, L.M.; Velasquez, M.E.; Zee, F.T. Identification and characterization of *Pestalotiopsis* spp. causing scab disease of guava, Psidium guajava in Hawaii. Plant Dis, 2006, 90:16–23. DOI: 10.1094/PD-90-0016
6. Tejesvi, M.V. ; Mahesh, B. ; Nalini, M.S. ; Prakash, H.S. ; Kini, K.R. ; Subbiah, V. ; Shetty H.S. Endophytic fungal assemblages from inner bark and twig of Terminalia arjuna W and A. (Combretaceae). World J Microbiol Biotechnol, 2005, 21:1535–1540. DOI 10.1007/s11274-005-7579-5
7. Wei, J.G. ; Xu, T. ; Guo, L.D. ; Liu, A.R. ; Zhang, Y. ; Pan, X.H. Endophytic *Pestalotiopsis* species associated with plants of Podocarpaceae, Theaceae and Taxaceae in southern China. Fungal Divers, 2007, 24:55– 74.
8. Watanabe, K.; Motohashi, K.; Ono, Y. Description of *Pestalotiopsis pallidotheae*: a new species from Japan. Mycoscience, 2010, 51:182–188. DOI: 10.1007/s10267-009-0025-z
9. Aly, A.H.; Debbab, A.; Kjer, J.; Proksch, P. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. Fungal Divers, 2010, 41(1):1–16. DOI: 10.1007/s13225-010-0034-4
10. Guba, E.F. Monograph of *Monochaetia* and *Pestalotia* Harvard University Press, Cambridge, MA, USA, 1961, 342 p.
11. Jeewon, R. ; Liew, E.C.Y. ; Simpson, J.A. ; Hodgkiss, I.J. ; Hyde, K.D. Phylogenetic significance of morphological characters in the taxonomy of *Pestalotiopsis* species. Mol Phylogenet Evol, 2003, 27:372–383. DOI: 10.1016/S1055-7903(03)00010-1
12. Tejesvi, M.V. ; Tamhankar, S.A. ; Kini, K.R. ; Rao, V.S. ; Prakash, H.S. Phylogenetic analysis of endophytic *Pestalotiopsis* species from ethnopharmaceutically important medicinal trees. Fungal Divers, 2009, 38:167–183.
13. Hu, H.L.; Jeewon, R.; Zhou, D.Q.; Zhou, T.X.; Hyde, K.D. Phylogenetic diversity of endophytic *Pestalotiopsis* species in *Pinus armandii* and *Ribes* spp.: evidence from rDNA and βtubulin gene phylogenies. Fungal Divers, 2007, 24:1–22.
14. Bakry, M. ; Bussières, G. ; Lamhamedi, M.S; Margolis, H ; Stowe, D.C. ; Abourouh, M. ; Blais, M. ; Bérubé, J.A. A first record of *Pestalotiopsis clavispora* in Argan mass cutting propagation: Prevalence, prevention and consequences for plant production. Phytoprotection, 2009, 9(3): 89-132. DOI:10.7202/045780ar
15. Selmaoui, k. ; Touati, J. ; Chliyeh, M. ; Ouazzani Touhami, A. ; Benkirane, R. ; Douira, A. Study of *Pestalotiopsis palmarum* pathogenicity on Washingtonia robusta (Mexican palm) International Journal Of Pure & Applied Bioscience, 2014, 2 (6): 138-145.
16. Chliyeh, M.; Rhimini, Y.; Selmaoui, K.; Touhami Ouazzani, A.; Filali-Maltouf, A.; El Modafar, Ch.; Moukhli, A.; Oukabli, A.; Benkirane, R.; Douira, A. First Report of *Pestalotia fici* Causing Leaf Chlorosis and Fruit Rot on Olive (Olea Europaea L.) In Morocco, International Journal of Recent Scientific Research, 2014, Vol. 5, Issue, 1, pp.136-141.
17. Yamni, K.; Dohou, N.; Outcoumit, A.; Ouazzani Touhami, A.; Douira, A. First report of *Pestalotia subcuticularis* on *Pyrus mamorensis* in Morocco. Phytopathologia Mediterranea, 2006, 45: 40-42. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-1811
18. Khey, A.; Ouabbou, A; Selmaoui, K.; Ouazzani Touhami, A.; Benkirane, R.; Douira, A. *Chamaerops* humilis un nouvel hôte de *Pestalotiopsis cruenta* (Kleb.) Steryaert au Maroc. Lebanese Science Journal, 2013, 14: 129-132.

المملكة المغربية
ⵜⴰⴳⵍⴷⵉⵜ ⵏ ⵍⵎⵖⵔⵉⴱ
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

ANEF
الوكالة الوطنية للمياه والغابات
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المؤتمر الدولي للأركان

ⵓⵔⵓⵎ ⵓⵏⵓⴹⵉⵏⵓ ⵎⵓⵔⵓⵏ

7ème édition

الصويرة
Essaouira
2024 ماي 12<10
10>12 Mai 2024

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⵓⵔⵓⵎ ⵅⵍⴹⴰ ⵏ ⵜⵙⵏⵉⵏ ⵏ ⵜⵉⵣⵣⵓⵏ

7ème édition du Congrès International de l'arganier, sous le thème :
"l'arganier à l'épreuve du changement climatique"
à Essaouira, du 10 au 12 Mai 2024

Université Ibn Tofaïl

Fusarium solani, un pathogène responsable de la pourriture racinaire et de dépérissement des plants d'arganier des pépinières au Maroc

Mohamed EL RHOCH[1*], Soukaina MAAZOUZI[1], Mohamed OUAJDI[2], Zineb SELLAL[1], Najoua MOUDEN[1], Karima SELMAOUI[1], Amina OUAZZANI TOUHAMI[1], Moulay Abdelaziz EL ALAOUI[1], Amar RABHI[2], Allal DOUIRA[1]

1. Laboratoire des Productions Végétales, Animales et Agro-industrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra, Maroc

2. Centre d'Innovation, de Recherche et de Formation, Agence Nationale des Eaux et Forêts, Rabat Agdal 10050, Maroc

Résume

L'extension de la culture de l'arganier pourra connaitre des problèmes liés aux maladies fongiques. *Fusarium solani* a été détecté en 2023 chez des plants d'arganier des pépinières du sud-ouest du Maroc montrant des dépérissements. Le postulat du Koch a été étudié chez des plants inoculés par *Fusarium solani* isolé des plants malades. Les plants inoculés, après 8 à 10 semaines de culture, ont montré différents types de symptômes, nécroses, pourriture racinaire et dépérissement de la partie végétative. Le pathogène a été ré isolé à partir des racines, et à partir de différents niveaux des plants, avec un pourcentage de ré isolement de 80% par rapport aux plants témoins qui n'ont pas présenté de symptômes. L'origine des symptômes a été discutée dans cette étude.

Introduction

La production des plants dans les pépinières constitue le principal maillon de la chaîne des reboisements dont dépend leur réussite (El Asri *et al.,* 2013 et 2014). La qualité des plants produits en pépinière est considérée comme l'un des facteurs limitant l'installation et la survie des jeunes semis en site de plantation (Zine El Abidine et Lamhammedi, 1994). Ces plants doivent être vigoureux, ayant les caractéristiques biologiques et physiologiques requises pour assurer leur survie et leur croissance après transplantation (Ammari *et al.,* 2020).

L'état sanitaire des plants forestiers dans les pépinières est peu connu au Maroc. La présente étude concerne la qualité sanitaire des plants d'arganier élevés dans des pépinières situées dans le sud-ouest du Maroc présentant des symptômes de dépérissement.

Materials and methods

Des plants d'arganier des pépinières de Sud-Ouest du Maroc ont présenté des symptômes de desséchement, de dépérissement, jusqu'à 60%, et des nécroses racinaires (**figure 1**).

Ces plants sont ramenés au laboratoire et des isolements sont effectués à partir des racines, et des rameaux desséchés. Les échantillons sont découpés en fragments de 1 à 2 cm, désinfectés avec l'alcool, déposés sur milieu PSA (Potato Sucrose Agar : 200 g de pomme de terre, 20 g saccharose, 15 g agar, 1000 ml eau distillée) et les cultures sont incubées à 25°C.

Tous les plants sont placés dans une serre et irriguées chaque semaine avec l'eau de robinet. Le développement des symptômes a été suivi pendant 2 mois chez les plants d'arganier inoculés. Le réisolement de *Fusarium solani* à partir des plants d'arganier inoculés a été réalisé également 2 mois après inoculation des racines. Des coupes transversales au niveau des racines, des tiges desséchés et des pétioles des feuilles ont été déposés séparément dans l'alcool à 90° pendant 1 à 2 minutes, rincées abondamment à l'eau stérile et séchées sur un papier filtre stérile. Les fragments des plants ainsi préparés sont déposés dans des boîtes de Petri contenant le milieu gélosé (20 g de gélose/ l d'eau distillée). L'observation des coupes est faite après une semaine à température de 25°C.

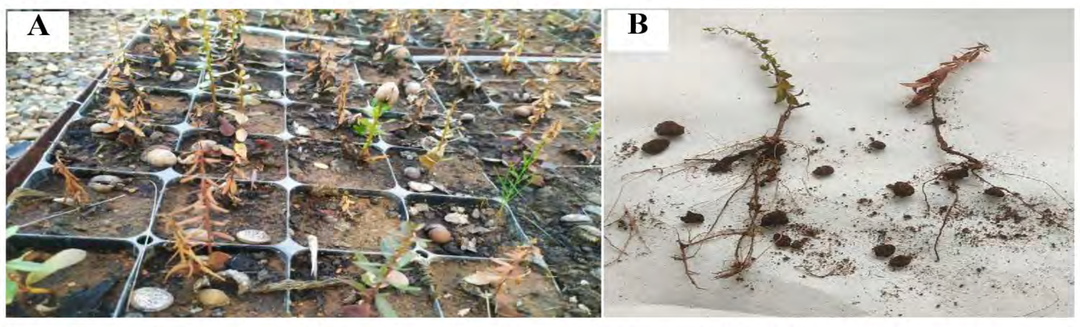


Figure 1 : Plants d'arganier élevés au niveau de la pépinière montrant des symptômes de dépérissement et des nécroses racinaires.

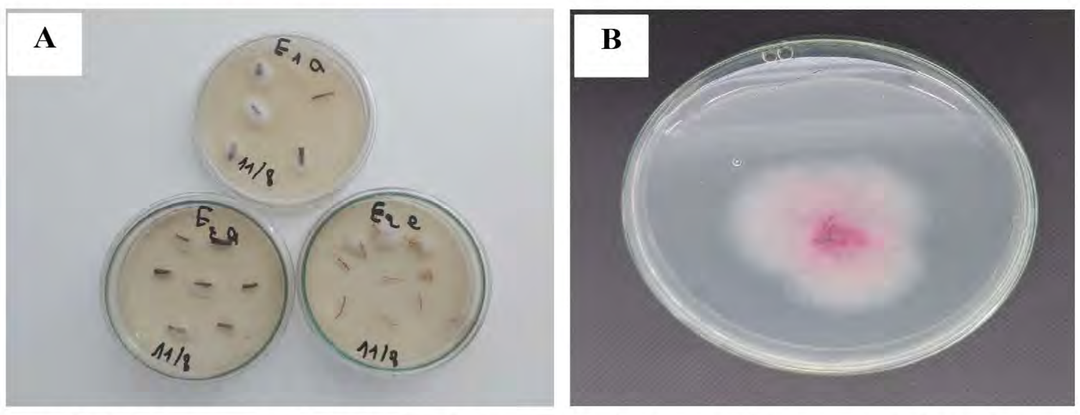


Figure 2 : Développement des colonies de *Fusarium solani* autour des fragments des racines et des tiges des plants d'arganier (A et B) montrant des symptômes de dépérissement.

Results

Des isolements effectués à partir des racines et de la partie végétative des plants d'arganier présentant des symptômes de dépérissement ont permis de noter la présence de *Fusarium solani* (pourcentage d'isolement de 80%) (**Figure 2).**

Chez les cultures âgées, le mycélium blanc cotonneux prend la couleur mauve ou blanc rose. Sous microscope, *F. solani* est caractérisé par un mycélium septé et la présence de microconidies (12.3 µm) uni ou bicellulaires. Les spores de résistance sont des chlamydospores (**Figure 3**) en position terminale, latérale ou intercalaire. Ces informations sont identiques à celles rapportées par Chliyeh *et al.* (2017).

L'isolat de *F. solani* testé a pu induire, 2 mois après inoculation, des symptômes de desséchement et de dépérissement chez les plants d'arganier (**Figure 4**). Le desséchement survient du haut vers le bas puis se généralise.

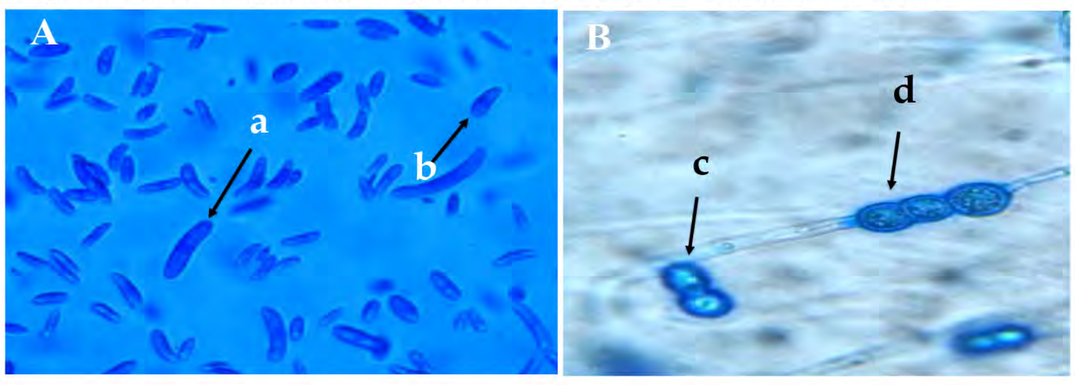


Figure 3 : Observation microscopique (A et B) de macroonidies (a), microconidies (b), et chlamydospores latérale (c) et intercalaires (d) de F. solani, après 10 jours de culture.

Figure 4 : Plants d'arganier témoins (T) et inoculés par *F. solani* (Fs), montrant des symptômes de dépérissement et de la pourriture racinaire, après 8 semaines de culture.

Conclusion

Le postulat de Koch a été vérifié par le l'inoculation des plants d'arganier avec *F. solani*, isolé des plants malades, et son ré isolement à partir de plants artificiellement inoculés après 8 semaines de culture. C'est la première fois que *F. solani* a été identifié comme responsable de la pourriture des racines et de dépérissement des plants d'arganier au niveau des pépinières au Maroc.

Reference

-El Asri, A., Ait Aguil, F., Douaik, A., Ouazzani Touhami, A., & Douira, A. (2013). Study of the effect of irrigation on the growth of carob plants in eastern Morocco: planting with seedlings a year. *Journal of Animal and Plant Sciences*, *19*(3), 2941-2947.

-Zine El Abidine, A. et M.S. Lamhamedi. (1994). Production des plants et techniques de plantation des Eucalyptus au Maroc. Dans Les Eucalyptus au Maroc. Eds. Fechtal, M. et E.K. Achhal. p. 84-104.

-Chliyeh, M., Msairi, S., Ouazzani Touhami, A., Benkirane, R., & Douira, A. (2017). Detection of *Fusarium solani* as a pathogen causing root rot and wilt diseases of young olive trees in Morocco. *Annual Research & Review in Biology*, *13*(5), 1-7. 1.

-Ammari, M., Othman, H., Rtibi, K., Sakly, M., & Abdelmelek, H. (2020). The effects of Carob (Ceratonia siliqua L.) on emotional behavior impairment and metabolic disorders induced by estrogen deficiency in rats. Journal of medicinal food, 23(9), 961-966.

المملكة المغربية
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

الوكالة الوطنية للمياه والغابات
ANEF
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المـؤتـمـر الـدولـي للأركـان

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجـر الأركـان فـي مواجهــة التغيـر المناخـي

Argan tree facing the challenge of climate change

7ème édition

الصويـرة
Essaouira

2024 ماي 12<10
10>12 Mai 2024

Institut Royal des Techniciens Spécialisés des Eaux et Forêts

المملكة المغربية
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة و الصيد البحري و التنمية القروية و المياه و الغابات
Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

ANEF
الوكالة الوطنية للمياه والغابات
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

Les techniques et la période optimale d'elevage en pépiniere pour la production des plants de qualité d'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels)

Mohamed Ouajdi [1,*], Soukaina Maazouzi [2,3] , Ismail Etaleb [1], Oumaima Ninich [1], Jalila Aoujdad [1], Hayat Oubrahim [1], Salwa el Antry Tazi [1], Fatima Aabidi [4], Nour Eddine Amirat [4], Oussama Zekhnini [4], Allal Douira [1]

[1] Centre d'Innovation, de Recherche et de formation, Agence Nationale des Eaux et Forêts Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime et du Rural Développement et Eaux et Forêts, BP 763 Agdal Rabat 10050, Maroc ;
[2] Institut Supérieur des Professions Infirmiers et des Techniques de Santé (ISPITS), Dakhla, Morocco ;
[3] Laboratoire Productions Végétales, Animales et Agro-Industrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, BP.133-14000, Kénitra, Morocco ;
[4] Insttitut Royale des Techniciens Spécialisés des Eaux et Forêts, Avenue Soudan Tabriquete Salé Maroc

Résumé

Cette étude vise à produire des plants d'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) robustes et résilients, capables de résister aux attaques de pathogènes et aux contraintes hydriques post-transplantation. Après une période de six (6) mois, nos observations ont révélé des résultats significatifs : une hauteur moyenne des plants de 22 cm, un diamètre moyen au collet de 3,8 mm, un coefficient de robustesse de 5,8, et un système racinaire bien développé. Nos résultats indiquent que les plants d'arganier atteignent un stade de développement optimal à l'âge de six mois, répondant aux critères morphologiques de qualité pour des bon plant.

Introduction

L'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels.) est une essence originale, qui porte un intérêt social et économique et surtout botanique et écologique [1]. L'arganier, un arbre millénaire, est endémique du Maroc, 70 % d'arganier est boisée dans la région « Sud-ouest du Maroc », qui s'étend de Safi au Nord jusqu'à la partie sud de la région saharienne [2].

Vu les contraintes faible précipitations et la rareté des semis naturels, le vieillissement des populations, l'épuisement des souches et l'expansion de l'urbanisation, ainsi que par divers aménagements et équipements des villes et des villages aux dépens de l'arganeraie [3], la régénération naturelle d'arganier devient quasiment impossible, d'où la nécessité de recourir à la régénération assistée afin de reconstituer et réhabiliter les forêts d'arganiers. Les nouvelles stratégies de régénération s'est fixée parmi ses priorités l'introduction de nouvelles technologies et l'amélioration des pratiques culturales (irrigation, fertilisation, conteneurs, etc.) de production de plants forestiers, éléments clés de la réussite des reboisements forestiers [4].

L'objectif de cette recherche est d'améliorer la filière de production de plants d'arganier de haute qualité qui est affectée par diverses pratiques culturales et divers facteurs, vu que la qualité des plants est la combinaison de plusieurs facteurs notamment la hauteur, le diamètre au collet, la santé, la taille, le poids, et la forme de la tige et des racines.

Matériels

Les graines utilisées proviennent de la forêt de Sidi Boushab, dans la province d'Agadir, relevant de la Direction des Eaux et Forêts d'Agadir.

Le substrat utilisé pour le développement se compose de 75% de tourbe et de 25% de terreau forestier. Les portoirs utilisés sont à paroi rigide, comprenant 35 alvéoles de 500 CC chacun, avec des guides racinaires au niveau de la paroi de l'alvéole.

Méthodes

Pour la méthode de pré-germination de l'arganier, la stratification est employée afin de lever la dormance embryonnaire. Cette méthode consiste à placer les graines d'arganier dans une couche humide de tourbe pendant une durée de 15 jours, à une température ambiante en plein air et sous le soleil.

Des traitements phytosanitaires ont été appliqués de manière préventive pour contrer principalement les fontes de semis, qui représentent une menace significative pour l'arganier [5].

Le suivi de la vitesse et du taux de germination a été effectué quotidiennement afin d'observer l'évolution de la levée des plants. Parallèlement, les critères morphologiques tels que la hauteur des plants et le diamètre au collet ont été mesurés.

Dans le cadre de cette étude, douze (12) plants d'arganier, âgés respectivement de 4, 5, 6 et 9 mois, ont été prélevés afin d'évaluer leur système racinaire.

Conclusions

Notre étude expérimentale sur les plants d'arganier, en se concentrant sur des paramètres morphologiques tels que la hauteur, le diamètre au collet, l'état du système racinaire et le quotient de robustesse, a produit des résultats instructifs. Sur une période de 6 mois, nous avons observé une hauteur moyenne de 22 cm, accompagnée d'un diamètre moyen au collet de 3,8 mm. Un quotient de robustesse de 5,8 a été enregistré, indiquant un potentiel de croissance vigoureux. De plus, le développement d'un système racinaire bien ramifié, marqué par l'émergence de nouvelles racines, souligne la résilience et l'adaptabilité de l'arbre. Ces résultats mettent en lumière la trajectoire de croissance robuste des arbres d'arganier, en particulier lorsqu'ils sont cultivés dans des cellules de 500 cc. De telles observations offrent des implications précieuses pour la culture et la gestion de cette espèce précieuse.

Résultats et Discussion

Taux de germination

La mise en prégermination de 150 graines d'arganier dans de la tourbe humidifiée pendant 15 jours a conduit à la germination de 133 graines (Figure 1), soit un taux de germination de 88,66%. Dans la littérature, la stratification est considérée comme une technique permettant un gain de temps important dans l'itinéraire culturel, tout en donnant un taux de germination deux à trois fois supérieur à celui du témoin [6]. Durant une période de suivi de 3 mois, 108 plantules d'arganier ont émergé des portoirs, ce qui correspond à un taux de 81,2%.

Figure 1. Prégermination des graines d'arganier

Cinétique de la germination

Les résultats indiquent que la germination des graines d'arganier débute dès le 5ème jour après leur mise en pépinière. Après 24 jours, le pic de germination des graines d'arganier est atteint, avec 23 graines germées, marquant une période totale de germination d'environ 37 jours. Cette période a été observée au cours d'une étude étendue sur 52 jours. La littérature confirme l'importance cruciale de la germination des graines dans le cycle de vie des plantes. Pour améliorer ce processus, différents prétraitements sont utilisés afin de surmonter la dormance des graines, favorisant ainsi une germination optimale et une croissance vigoureuse des plantules [7].

Paramètres dendrométriques

Les plants des graines d'arganier a été surveillé, et il a été observé que la hauteur moyenne des plants ainsi que le diamètre moyen au collet augmentaient progressivement. À 9 mois de culture en pépinière, les plants atteignaient une hauteur moyenne de 40 cm et un diamètre au collet de 7,2 mm, en accord avec les résultats obtenus au Congo où la corrélation entre la hauteur et le diamètre au collet était positive [8].

Systèmes racinaires

L'observation des systèmes racinaires des plants d'arganier à différents stades de croissance révèle des résultats significatifs. Les plants âgés de 4 mois présentent des anomalies, tandis que ceux âgés de 5 mois montrent une croissance normale sans aberrations au niveau du système racinaire. À 6 mois, les systèmes racinaires sont bien développés, avec une racine principale formant un angle supérieur à 110°, et une morphologie satisfaisante. Cependant, les observations des plants de 9 mois indiquent la présence de chignons racinaires, de nombreuses racines mortes, et l'absence de nouvelles racines, ce qui soulève des préoccupations quant à leur nutrition minérale et hydrique (Figure 2.).

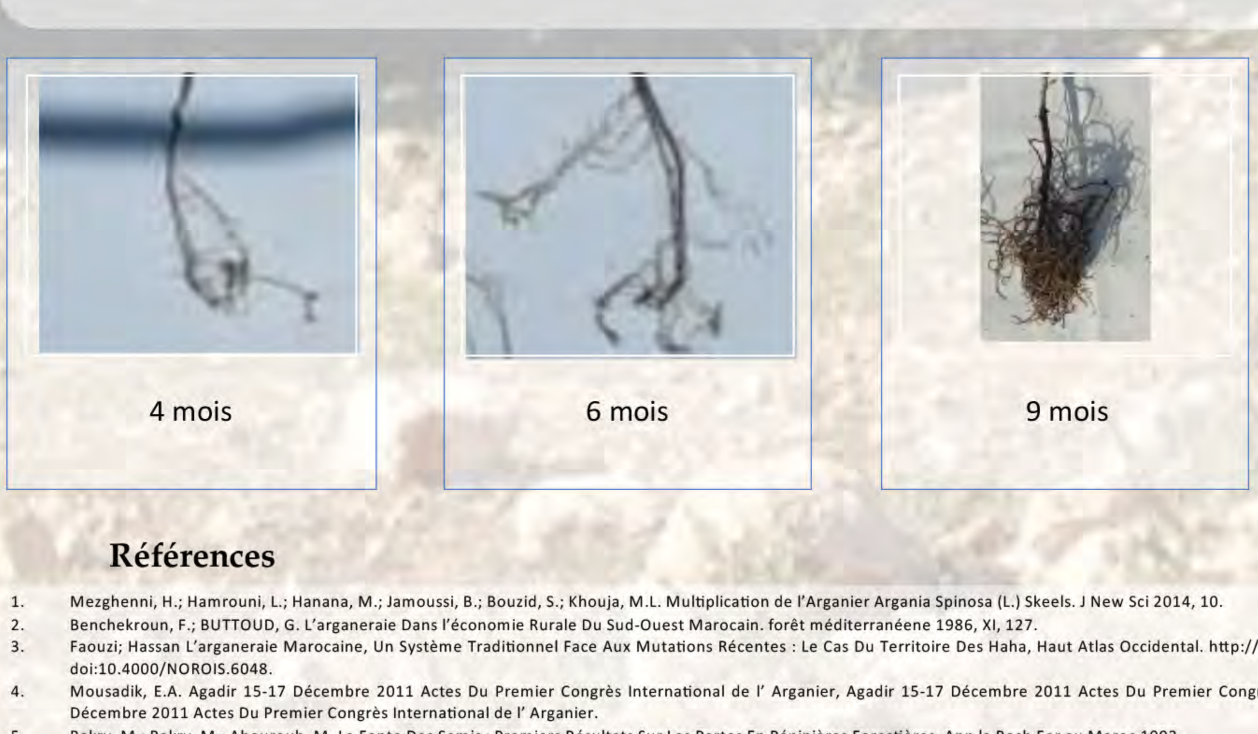


Figure 2. Évolution des systèmes racinaires des plants d'Arganier au fil des Mois

Références

1. Mezghenni, H.; Hamrouni, L.; Hanana, M.; Jamoussi, B.; Bouzid, S.; Khouja, M.L. Multiplication de l'Arganier Argania Spinosa (L.) Skeels. J New Sci 2014, 10.
2. Benchekroun, F.; BUTTOUD, G. L'arganeraie Dans l'économie Rurale Du Sud-Ouest Marocain. forêt méditerranéene 1986, XI, 127.
3. Faouzi; Hassan L'arganeraie Marocaine, Un Système Traditionnel Face Aux Mutations Récentes : Le Cas Du Territoire Des Haha, Haut Atlas Occidental. http://journals.openedition.org/norois 2017, 57–81, doi:10.4000/NOROIS.6048.
4. Mousadik, E.A. Agadir 15-17 Décembre 2011 Actes Du Premier Congrès International de l' Arganier, Agadir 15-17 Décembre 2011 Actes Du Premier Congrès International de l' Arganier, Agadir 15-17 Décembre 2011 Actes Du Premier Congrès International de l' Arganier.
5. Bakry, M.; Bakry, M.; Abourouh, M. La Fonte Des Semis : Premiers Résultats Sur Les Pertes En Pépinières Forestières. Ann la Rech For au Maroc 1992.
6. Carron, C.; Vouillamoz, C.A.B.J.F.; De, S.; Acw, A.C. Procédés de Stratification Pour La Germination de La Verveine Officinale. 2008, 195–199.
7. Rakoto, F.N.J.; Randrianirina, V.A.T.; Randriambanona, H.; Andrianandrasana, M.D.; Baohanta, R.H.; Randriatafika, F.; Ramanamanjato, J.B.; Razakatiana, T.E.; Rakotoarimanana, V.; Ramanankierana, H. Chapitre 43. Traitement de Scarification Pré-Germinatif Des Graines Pour Une Restauration Écologique Des Zones Dégradées. Biodiversité des écosystèmes intertropicaux 2022, 637–647, doi:10.4000/BOOKS.IRDEDITIONS.42144.
8. Ilye, B.; Banda, M. Tentative d ' Une Substitution de l ' Engrais Classique KCl Par Le Mulch et Les Cendres de La Jacinthe d ' Eau (Eichhornia Crassipes) Dans La Culture Du Soja Sur Un Sol Ferrallitique à l ' État d ' Altération Très Avancé :. 2007, 1, 67–72.

المملكة المغربية
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

ANEF
الوكالة الوطنية للمياه والغابات
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المـؤتـمـر الـدولـي للأركـان

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجـر الأركـان فـي مواجهــة التغيـر المناخـي

Argan tree facing the challenge of climate change

7ème édition

الصويــرة

Essaouira

2024 ماي 12<10

10>12 Mai 2024

Université Mohammed V Faculté des Sciences Rabat

Genome-Wide Identification and Development of Genic Microsatellite Markers (CDS-SSR) in *Argania spinosa* L. (Skeels)

RABEH Karim[1*], MGHAZLI Najoua[1], GABOUN Fatima[2], FILALI-MALTOUF Abdelkarim[1], SBABOU Laila[1] and BELKADI Bouchra[1,*]

[1] Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, Faculty of Sciences, Mohammed V University, Rabat, B.P. 1014 RP, Morocco

[2] National Institute for Agricultural Research - Rabat , INRA [*]Correspondance : b.belkadi@um5r.ac.ma ; rabehkarim91@gmail.com ;

Background Microsatellites (SSRs) represent one of the most widely used sources of genetic markers, particularly prevalent in plants. Despite their significance across various applications, a comprehensive genome-wide identification of coding sequence (CDS)-associated SSR markers in the argan genome has yet to be undertaken. The availability of the draft genome sequence of argan presents unprecedented opportunities for SSR identification. In this study, we identified 66,280 coding sequences (CDS) containing 5,351 SSRs within 4,535 *Argania spinosa* L CDS. Among these, tri-nucleotide motifs (58.96%) were the most prevalent, followed by hexa-nucleotide (15.71%). The predominant SSR motif in the tri-nucleotide category was AAG (24.4%), while AG (94.1%) was the most abundant among di-nucleotide repeats. Furthermore, the extracted CDS containing SSRs were subjected to functional annotation. Of these, 3,396 CDS (74.88%) exhibited homology with known proteins, 3,341 CDS (73.7%) were assigned Gene Ontology (GO) terms, 1,004 CDS were annotated with Enzyme Commission numbers (EC), and 832 (18.3%) were annotated with KEGG pathways (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes). Additionally, a total of 3,475 primer pairs were designed, out of which 3,264 were successfully validated in silico against the A. *spinosa* L. genome, with 99.6% representing high-resolution markers yielding no more than three products.

Methodology

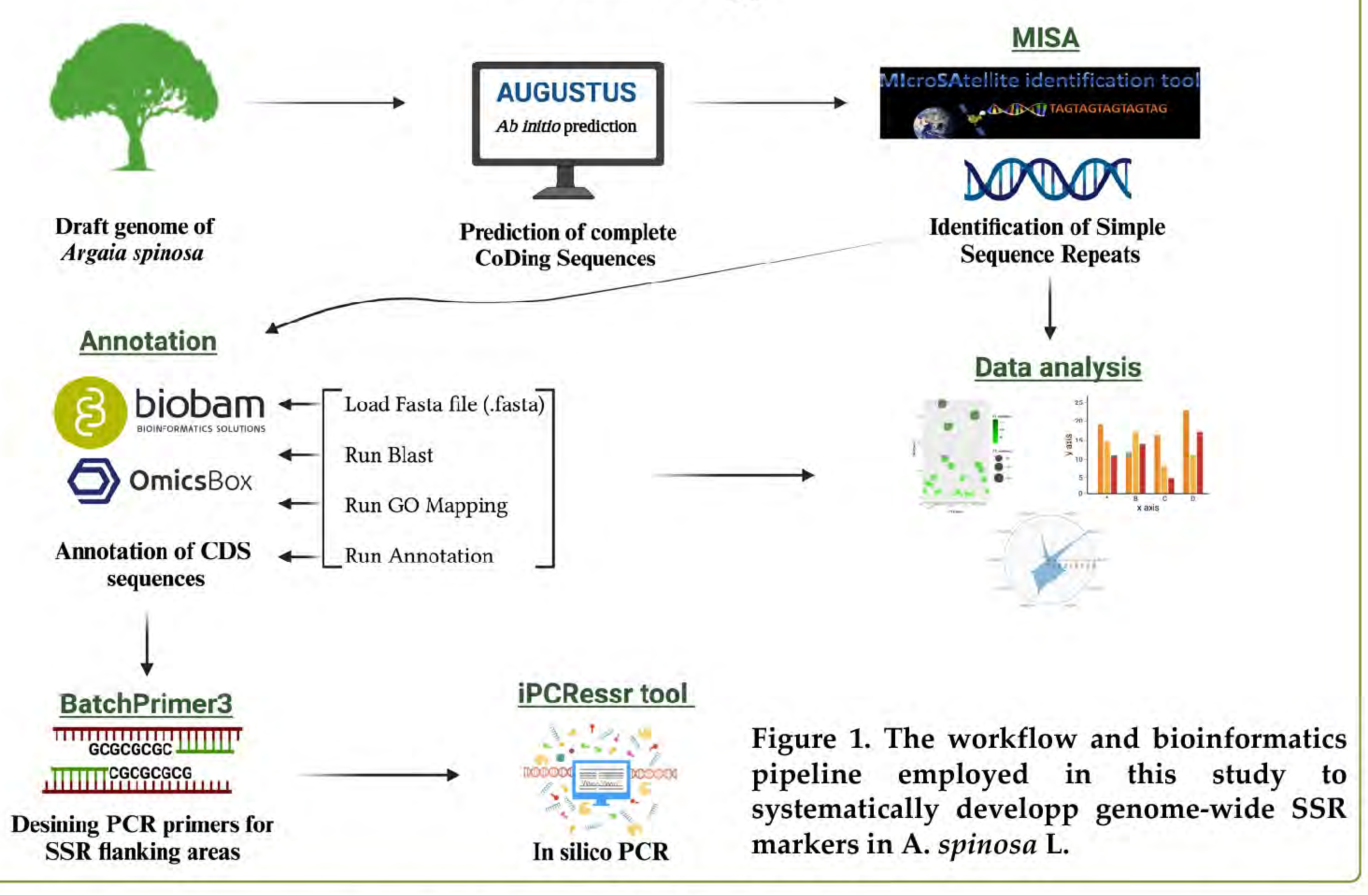


Figure 1. The workflow and bioinformatics pipeline employed in this study to systematically developp genome-wide SSR markers in A. *spinosa* L.

Out of 3,396 CDS, 74.88% showed homology with known proteins, while 8.48% were homologous to expressed, hypothetical, or unknown proteins. The remaining 16.62% sequences did not possess homology with any known proteins (NA) (Figure 3). In addition, 398 out of 3,396 sequences were annotated for transcription regulator activity belonging to numerous families such as MYB, WRKY, and AP2/EREBP, some of which might play roles in regulating development and metabolism (Figure 3).

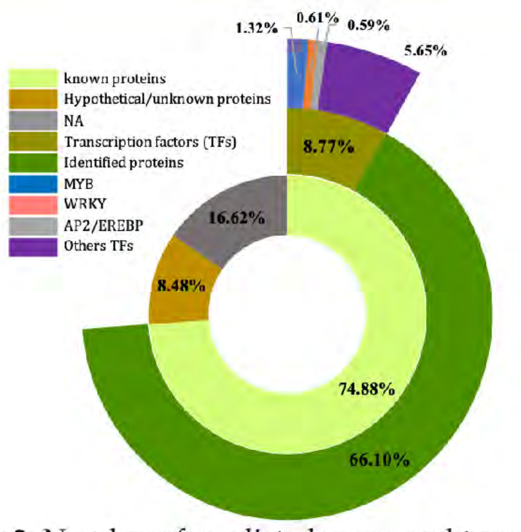


Figure 3. Number of predicted genes and transcription factors harboring SSR in *Agania spinosa* L.

Functional annotation was successfully performed on 4,535 annotated CDS, with 3,396 (NR, 74.88%), 3,341 (GO, 73.7%), 1,004 (EC, 22.1%), and 832 (KEGG, 18.3%) CDS annotated through this process (Figure 4).

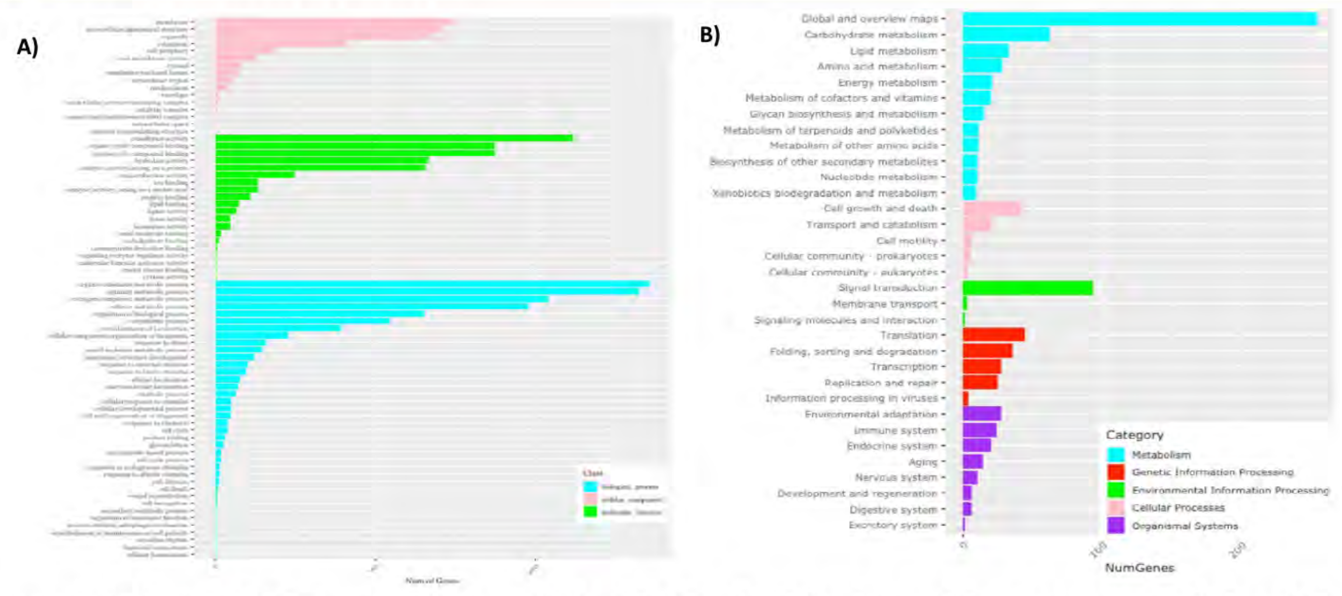


Figure 4. GO and KEGG annotation analysis. A) GO classifications of 3341 genes containing SSRs distributed in three main categories: biological process, molecular function and cellular component. B) KEGG metabolic pathway mapping of genes containing SSRs in KEGG databases.

Results and Discussion

A total of 5,351 SSRs were identified across 13 scaffolds, encompassing 4,535 CDS (Table 1). Approximately 6.84% of Argan CDS were found to carry SSRs. Notably, the density of SSRs in coding regions (89.9 loci/Mb) surpassed that reported in other species like Diospyros oleifera (13.48 loci/Mb) [1].

Table 1. Statistics of microsatellites mined from coding regions of A. *spinosa* L.

SSR mining	Number
Total number of coding examined	66,280
Total size of examined sequences	59,704,245 pb
Number total of SSRs	4,535
Number of genes with SSRs	5,351
Number of genes with more than 1 SSRs	657
Number of SSRs present in P.F	4,694
Number of SSRs present in C.F	395
The average length of SSRs	19.45 pb
The % of sequence covered by SSRs	0.17 %
Relative abundance	89.9 loci/Mb
Relative density	1749.6 pb/Mb

Trinucleotides repeat types are the most dominant (58.96%, 3,155 SSRs) (Figure 2a), which is consistent with findings in other plant species investigations, including *Shorea robusta* (68.23%, 1,939 SSRs) and *Stevia rebaudina* (44.26%, 8,789 SSRs)[2, 3]. AAG/CTT was the most abundant type of trinucleotide repeat (Figure 2b).

The prevalence of AAG/CTT repeat motifs, particularly in coding regions (24.24%), mirrors previous findings in dicots such as citrus [4]. Similarly, in the genic region, the most common dinucleotide was AG/CT (94.1%) (Figure 2c). The predominance of AG/CT motifs in gene sequences has been widely observed in others species [1, 5].

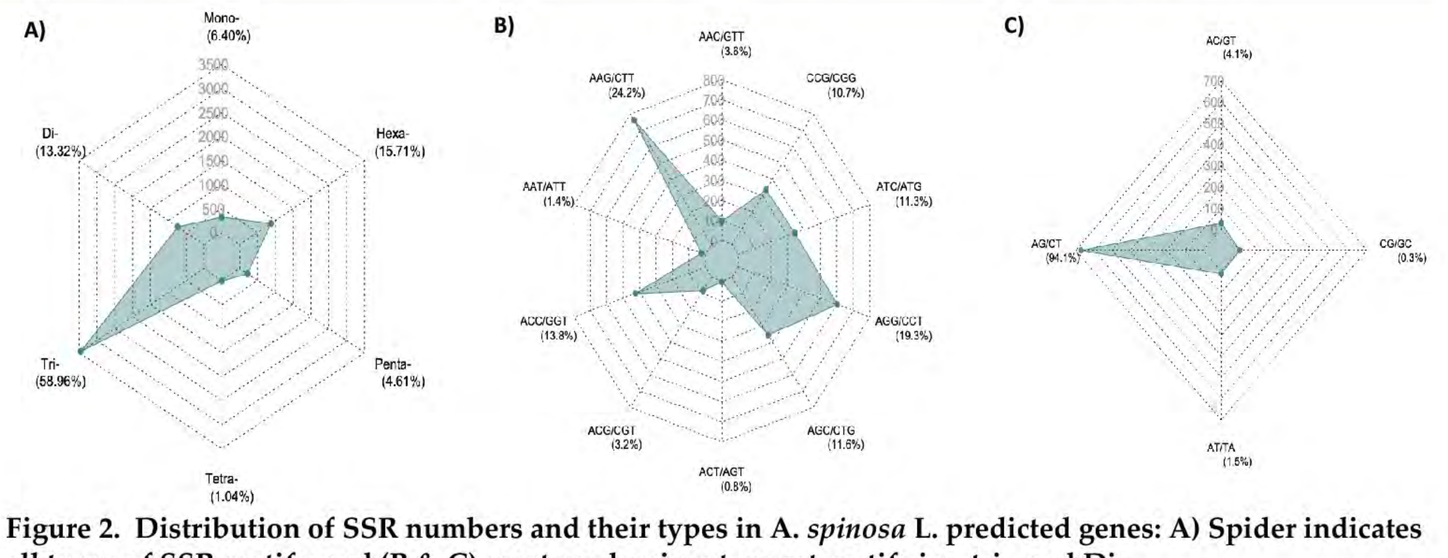


Figure 2. Distribution of SSR numbers and their types in A. *spinosa* L. predicted genes: A) Spider indicates all types of SSR motifs; and (B & C) most predominant repeat motifs i.e., tri-, and Di.

A total of 3,475 primers were designed, with significant proportion targeting trinucleotides (71.37%, 2,840) (Table 2). These primers underwent validation through *in silico* PCR to assess amplification efficiency. Impressively, a high percentage of the designed primers (93.92%, 3,264) successfully produced amplicons.

We assessed the cross-species transferability of these primer pairs, revealing a low transferability rate in two Sapotaceae species including P. *glomerata* (4.35%, 142) and V. *paradoxa* (5.24%, 171) based on their draft genome.

Table 2. Overall length, abundance, and density of six different types of perfect SSRs in coding regions (predicted genes) and the number of markers designed

	SSR Loci			Number of
Motif	Length (pb)	Relative abundance	Relative Density	designed markers
Mono-	3868	5.7 loci/Mb	65.0 bp/Mb	0
Di-	9972	12.0 loci/Mb	167.6 bp/Mb	587
Tri-	46431	53.0 loci/Mb	780.5 bp/Mb	2840
Tetra-	672	1.0 loci/Mb	11.3 bp/Mb	8
Penta-	3715	4.2 loci/Mb	62.4 bp/Mb	6
Hexa-	14310	14.1 loci/Mb	240.5 bp/Mb	34

Conclusion

In our study, we found 66,280 coding sequences (CDS), with 4,535 containing SSR motifs, mainly tri-nucleotide repeats. Functional annotation was performed on 4,535 CDS, with 74.88% annotated in NR, 73.7% in GO, 22.1% in EC, and 18.3% in KEGG databases. From 3,475 primer pairs developed, 3,264 pairs successfully amplified through in silico PCR validation against the Argan genome. However, cross-species transferability of these primers was low in two Sapotaceae species (P. glomerata and V. paradoxa) based on their draft genome sequences.

Acknowledgments: *We express our gratitude to Hassan II Academy of Science and Technology (Morocco) and The Ministry of Higher Education, scientific Research and Professional Training Of Morocco for their supports.*

REFERENCES

1. Xu, Y.; Liu, C.; Yang, X.; Wu, K.; Gong, B. Genome-Wide Microsatellite Characterization and Marker Development in Diospyros Oleifera. Industrial Crops and Products 2023, 203, 117182, doi:10.1016/j.indcrop.2023.117182.
2. Mishra, G.; Meena, R.K.; Kant, R.; Pandey, S.; Ginwal, H.S.; Bhandari, M.S. Genome-Wide Characterization Leading to Simple Sequence Repeat (SSR) Markers Development in Shorea Robusta. Funct Integr Genomics 2023, 23, 51, doi:10.1007/s10142-023-00975-8.
3. Azrul-Murad, A.A.; Yong, C.S.Y.; Tan, Y.L.; Ab Ghani, N.I. Identification and Characterization of Genic Simple Sequence Repeats from the Leaf and Stem Transcriptomes of Stevia Rebaudiana Bertoni. Scientia Horticulturae 2022, 300, 111067, doi:10.1016/j.scienta.2022.111067.
4. Liu, S.-R.; Li, W.-Y.; Long, D.; Hu, C.-G.; Zhang, J.-Z. Development and Characterization of Genomic and Expressed SSRs in Citrus by Genome-Wide Analysis. PLOS ONE 2013, 8, e75149, doi:10.1371/journal.pone.0075149.
5. Portis, E.; Lanteri, S.; Barchi, L.; Portis, F.; Valente, L.; Toppino, L.; Rotino, G.L.; Acquadro, A. Comprehensive Characterization of Simple Sequence Repeats in Eggplant (Solanum Melongena L.) Genome and Construction of a Web Resource. Frontiers in Plant Science 2018, 9.

المملكة المغربية

Royaume du Maroc

وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات

Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان

ANDZOA Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

ANEF الوكالة الوطنية للمياه والغابات AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المؤتمر الدولي للأركان

ⵓⵣⵓⵍ ⵓⵎⵓⴹⵏⵏⵉ ⵍⵓⵓⵣⵓⵏ

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⵓⵓⵣⵓⵏ ⵎⵏⴷⴰⵏ ⵏ ⵜⵓⵏⵏⵉⵏ ⵏ ⵜⵉⵣⵉⵣⵜ

7ème édition

الصويرة

Essaouira

10>12 ماي 2024

10>12 Mai 2024

Exploring Drought-Induced Antioxidative Traits in *Argania spinosa*: A Path to Climate Resilience

المدرسة العليا للأساتذة - مراكش

ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE– MARRAKECH

Abdelghani CHAKHCHAR[1], Merieme SOUFIANI[2], Mouna LAMAOUI[3], Abderrahim FERRADOUS[4], Said WAHBI[5], Abdelhamid EL MOUSADIK[6], Saâd IBNSOUDA KORAICHI[7], Abdelkarim FILALI-MALTOUF[8] & Cherkaoui EL MODAFAR[2]

[1] Laboratoire Interdisciplinaire de Recherche en Bio-ressources, Environnement et Matériaux, Ecole Normale Supérieure de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Mar-rakech 40000, Morocco

[2] Centre Agrobiotechnologie et Bioingénierie, Unité de Recherche Labellisée CNRST (AgroBiotech-URL-CNRST 05), Faculté des Sciences et Techniques, Université Cadi Ayyad, Marrakech 40000, Morocco

[3] Laboratoire Polyvalent en Recherche et Développement, Faculté Polydisciplinaire, Université Sultan Moulay Slimane, Beni Mellal, Morocco

[4] Centre Régional de la Recherche Forestière, Marrakech, Morocco

[5] Laboratoire Agro-Alimentaire, Biotechnologies et Valorisation des Bioressources Végétales, Faculté des Sciences, Université Cadi Ayyad, Marrakech 40000, Mo-rocco .

[6] 6 Laboratoire de Biotechnologie et Valorisation des Ressources Naturelles, Faculté des Sciences, Université Ibn Zohr, Morocco

[7] Laboratoire de Biotechnologie Microbienne et de Molécules Bioactives, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Morocco .

[8] Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Centre de Biotechnologie Végétale et Microbienne Biodiversité et Environnement, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat 10000, Morocco .

Abstract

Drought stress stands out as one of the foremost environmental chal-lenges confronting contemporary agriculture, exerting substantial detri-mental effects on plant growth and developmental processes. In Moroc-co, these adverse impacts are anticipated to escalate further amid the concurrent challenges posed by climate change and exacerbating water scarcity. The critical demand for sustainable arganiculture (the cultiva-tion of Argane trees) in dry lands underscores the urgent requirement for the rapid identification of drought-tolerant elite Argania spinosa trees. In this context, we examined the drought tolerance of two contrasting provenances (LKS and ALZ) under severe stress conditions, assessing their antioxidative defense mechanisms. A comprehensive analysis in-volving 24 parameters associated with reactive oxygen species (ROS), oxidative damage, and enzymatic and non-enzymatic antioxidant de-fense was conducted, allowing for a comparative evaluation between the two provenances. Regarding the inter-provenance variation under drought stress conditions, the LKS provenance displayed heightened an-tioxidative capacity characterized by increased activity in the Ascor-bate-Glutathione (AsA-GSH) cycle and elevated levels of Ascor-bate-Glutathione (AsA-GSH), alpha-tocopherol (α-toc), and polyphenols. Conversely, the ALZ provenance exhibited heightened anthocyanin lev-els and diminished peroxidative stress markers, specifically hydrogen peroxide and malondialdehyde. Significant and positive correlations were observed between the examined ROS and antioxidants.

** This research was funded by Académie Hassan II des Sciences et Techniques and Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique et de l'Innovation Morocco.*

7ème édition du Congrès International de l'Arganier
Mai 2024
Essaouira, Maroc

Laboratoire Interdisciplinaire de Recherche en Bio-ressources, Environnement et Matériaux, Ecole Normale Supérieure de Marrakech, Université Cadi Ayyad, Mar-rakech 40000, Morocco

chakhchar.ckr@gmail.com

Findings

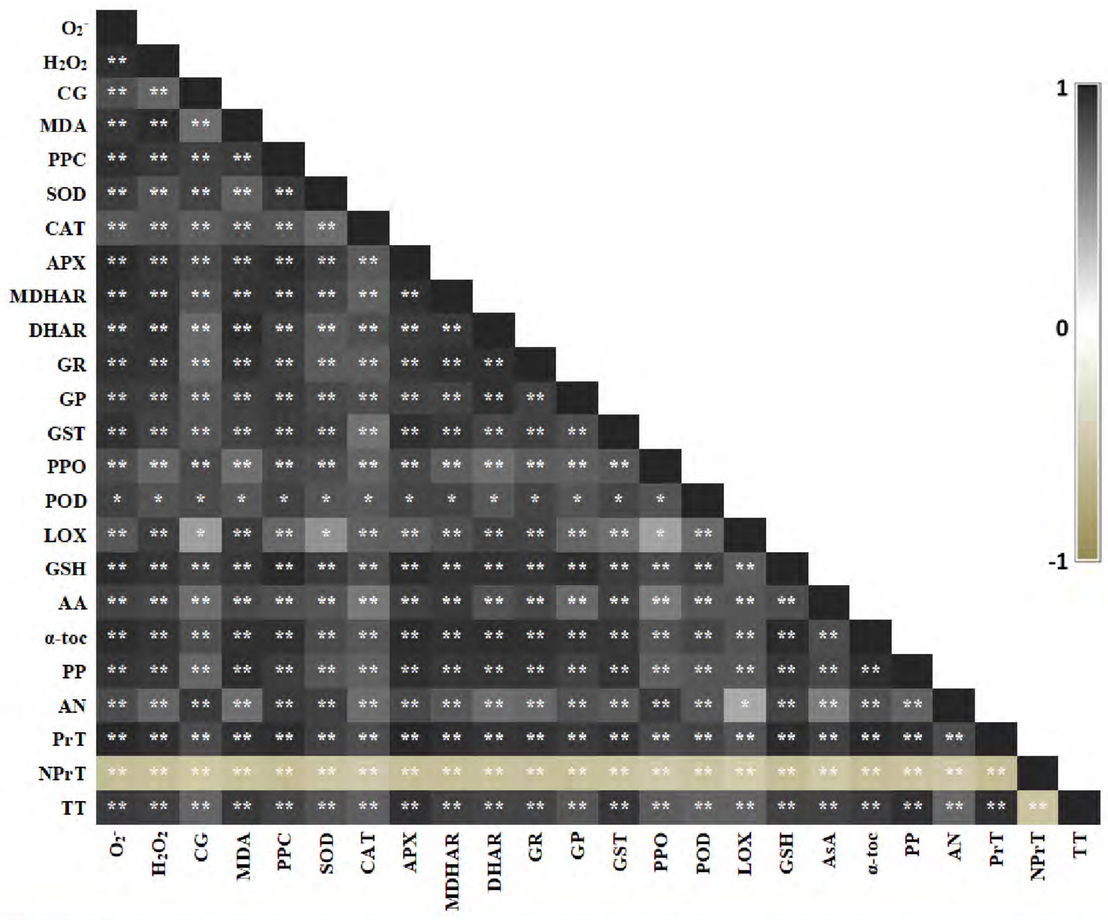


Figure 1. Color rectangles represent correlation coefficients ; black indicates a positive correlation coefficient, and yellow indicates a negative correlation coefficient. Significant differences at p≤ 0.05 are indicated by one white asterisk (*) while at p≤ 0.01 are marked by two white asterisks (**).

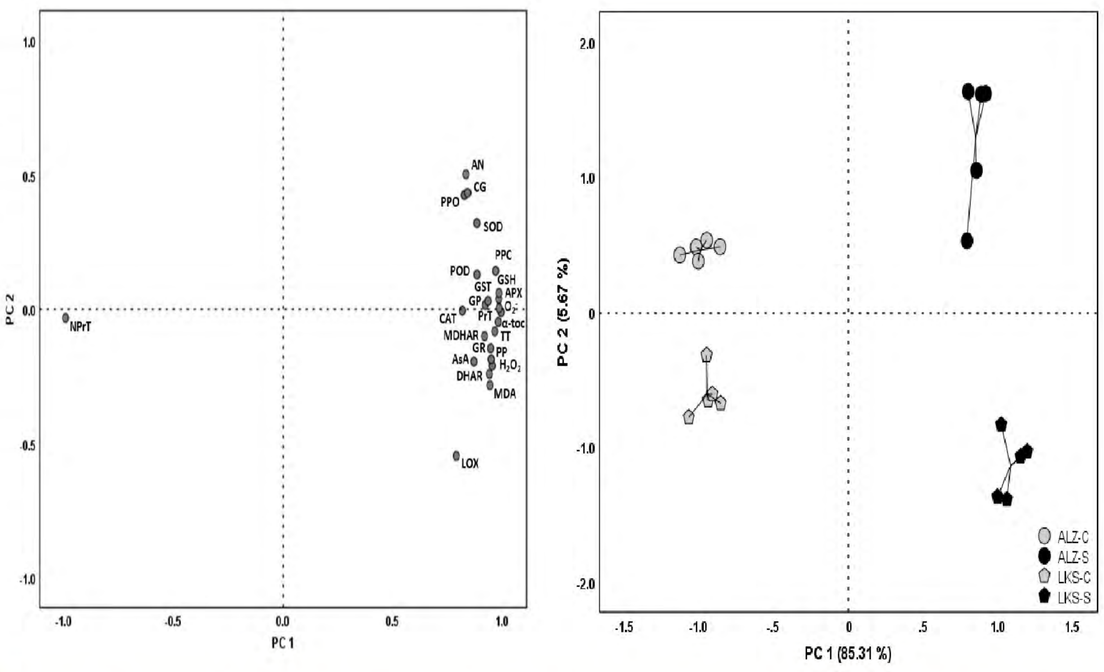


Figure 2. 2D scatterplots showing the distribution of all studied oxidative stress and antioxidants parameters (a) and *A. spinosa* provenances under control and drought stress condition (b) ac-cording to the two main principal components obtained by PCA in ALZ and LKS *A. spinosa* provenances.

Drought stress induced distinctive responses in both A. spinosa provenances, marked by discernible variations in oxidative stress levels and the enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense systems. These variations ultimately influence the Argane tree's drought tolerance. The recorded significant and positive correlations among ROS content, enzymatic antioxidant activity, and non-enzymatic antioxidant content in A. spinosa seedlings suggest a potential synergistic action within its oxidative defense system under drought stress conditions. Analysis of 24 biochemical parameters related to oxidative stress and antioxidant defense unveiled noteworthy inter-provenance variations in the response of A. spinosa seedlings to drought stress. LKS provenance was distinguished by enhanced enzymatic protection and increased cellular antioxidant pool, such as AsA-GSH content and AsA-GSH redox.

Materials and Methods

Two-year-old *Argania spinosa* seedlings, representing two contrasting provenances ALZ and LKS, were cultivated and randomly arranged in a growth chamber under controlled environmental conditions (day temperature of 28±1 °C, night temperature of 25±1 °C, long-day 16:8 photoperiod, 65-70% relative humidity, and an average maxi-mum photosynthetically active radiation (PAR) of 400 µmol m^{-2} s^{-1}). These seedlings were subjected to severe drought stress (25 % of field capacity) for six weeks. The as-sessment of pro-oxidants, oxidative damage, and enzymatic and non-enzymatic anti-oxidants was conducted in both control and stressed Argane seedlings (Table 1).

The dataset underwent an analysis of variance (ANOVA) to assess the influence of drought stress on the examined antioxidant traits. Additionally, Principal Component Analysis (PCA) was employed to discern and differentiate the two Argane prove-nances based on discriminatory variables. All statistical analyses were performed us-ing SPSS, version 25 for Microsoft Windows.

Table 1. The studied biochemical traits related to ROS, oxidative damage, and enzymatic and non-enzymatic antioxidants.

Trait	Abbreviation / Unit of measurement
Superoxide radical	O_2^-; µmol/g DW
Hydrogen peroxide	H_2O_2; nmol/g DW
Carbonyl groups	CG; nmol/mg of protein
Malonyldialdehyde	MDA; nmol/g DW
Pheophytinized chlorophyll	PPC ; %
Superoxide dismutase	SOD; nmol/min/mg of protein
Catalase	CAT; nmol/min/mg of protein
Peroxidase	POD; nmol/min/mg of protein
Polyphenoloxidase	PPO; nmol/min/mg of protein
Lipoxygenase	LOX; nmol/min/mg of protein
Glutathione S-transferase	GST; nmol/min/mg of protein
Glutathione peroxidase	GP; nmol/min/mg of protein
Glutathione reductase	GR; nmol/min/mg of protein
Glutathione peroxidase	GP; nmol/min/mg of protein
Monodehydroascorbate reductase	MDHAR; nmol/min/mg of protein
Dehydroascorbate reductase	DHAR; nmol/min/mg of protein
Ascorbic acid	AsA; µmol/g DW
A-Tocopherol	α-toc; µmol/g DW
Reduced glutathione	GSH; µmol/g DW
Polyphenols	PP; mg of gallic acid equivalents/g of DW
Anthocyanins	mg cyanidin-3-glucoside equivalent g^{-1}
Protein thiols	PrT; µmol/g DW
Non-protein thiols	NprT; µmol/g DW
Total thiols	TT; µmol/g DW

المملكة المغربية
ⵜⴰⴳⵍⴷⵉⵜ ⵏ ⵍⵎⵖⵔⵉⴱ
Royaume du Maroc

وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
ⵜⴰⵎⴰⵡⴰⵙⵜ ⵏ ⵜⵣⵎⵎⴰⵔⵜ ⵜⴰⵎⴰⵡⴰⵙⵜ ⴰⵏⵣⵓⵍ ⴰⵣⵣⵓⵍⴰⵏ ⴰⵎⵏⴰⵡ ⴷ ⴰⵎⵏⴰⵡ
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

الوكالة الوطنية للمياه والغابات
ANEF
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المؤتمر الدولي للأركان

ⵓⵣⵓⵍ ⵓⵛⵓⴹⵏⵏⵉ ⵍⵓⵓⵣⵓⵏ

7ème édition

الصويرة
Essaouira
2024 ماي 12<10
10>12 Mai 2024

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⵓⵓⵣⵓⵏ ⵛⵏⴹⴰ ⵏ ⵉⵙⵏⵏⵉⵏ ⵏ ⵉⵏⵣⴹⵣⵣⵜ

Détermination de l'activité antioxydante et des polyphénols totaux contenus dans les extraits méthanoliques des cals de l'arganier (*Argania spinosa* L.)

Koufan Meriyem[1], Mazri Mouaad Amine[1], Belkoura Ilham[2], Najat El Manssoury[1]

[1]National Institute of Agricultural Research, BP 415 Rabat Principale, 10090 Rabat, Morocco
[2]National School of Agriculture, BP S/40, 50001 Meknes, Morocco

INTRODUCTION

Au Maroc, les activités d'extraction et de transformation des dérivés de l'arganier sont une source de revenus pour environ un cinquième de la population locale dans les zones où cet arbre est cultivé. Cependant, malgré cette importance économique, la culture des cals, qui sont une source de métabolites primaires et secondaires importante, n'a jamais fait l'objet d'études approfondies pour cette espèce endémique. Ce travail a donc comme objectif de déterminer et comparer, la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des cals issus des feuilles et des graines de l'arganier.

MATERIELS ET METHODES

1. Matériel végétal

Pour réaliser cette étude, des échantillons de fruits mûrs d'arganier (*Argania spinosa* L.) ont été prélevés à partir d'un génotype issu de la station expérimentale Melk Zhar de l'Institut National de Recherche Agronomique du Maroc (INRA), (CRRA-Agadir). Les graines ont été extraites des fruits immédiatement après la récolte, puis concassées pour extraire les amendons.

2. Conditions de culture *in vitro*

La germination des graines et le développement des plantules ont été effectués sous une photopériode de 16h. Pour l'induction et la multiplication des cals, les cultures ont été maintenues dans des conditions d'obscurité. Avant utilisation, les cals ont été lyophilisés pendant 48h à -60 °C, broyés en poudre fine puis stockés à 4 °C.

3.Induction des cals

Les graines d'arganier ont été dépulpées, concassées et désinfectées suivant le protocole ci-après : Les amendons ont été d'abord lavés à l'eau distillée stérile, puis ont été désinfectés sous la hotte pendant 10 minutes, dans une solution composée de 50% d'eau de Javel commerciale (5% d'hypochlorite de sodium) et 50% d'eau distillée stérile, puis ont été rincé à l'eau distillée stérile pendant 10 minutes trois fois de suite.

Deux types d'explants ont été utilisés pour induire la callogenèse. Dans le premier cas, les graines ont été cultivées pendant un mois sur un milieu gélosé, composé de 0,6% d'agar dissous dans de l'eau distillée. Après germination, les plants ont été transférés au milieu 1/2 MS supplémenté avec 1 mg l-1 AIA et 1 mg l-1 BAP pendant deux mois. Les feuilles développées ont été utilisées comme explants. Dans le deuxième cas, des embryons zygotiques ont été excisés aseptiquement des graines et leurs parties cotylédonaires ont été utilisées comme explants. Pour l'induction et la multiplication des cals, les explants ont été cultivés sur le milieu MS/2 supplémenté avec 1 mg l-1 ANA et 1 mg l-1 2,4-D, suggéré par Lamaoui et al. (2019).

4. Préparation de l'extrait méthanolique

La préparation des extraits méthanoliques a été réalisée selon le protocole proposé par Yesil Celiktas et al.2007.

5. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux a été définie selon Yesil-Celiktas et al. (2007).La teneur en polyphénols totaux a été exprimée en équivalents d'acide gallique (EAG) (mg par gramme d'extrait sec) en utilisant l'équation suivante, basée sur la courbe d'étalonnage : y = 0,0144 x + 0,034, où y est l'absorbance.

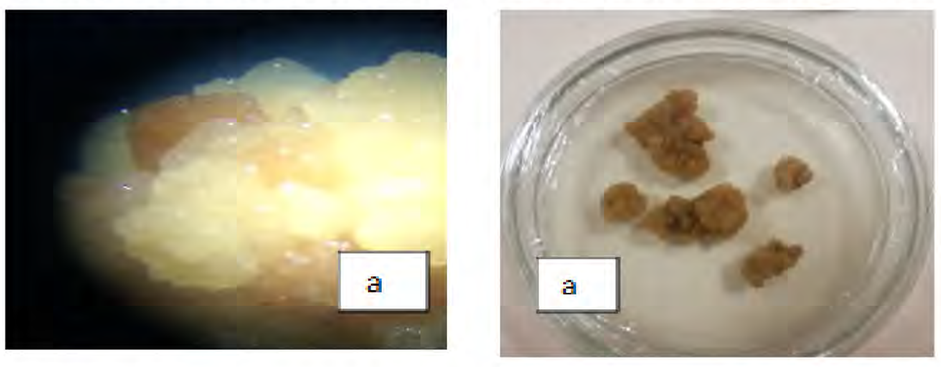
6. Détermination de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante a été déterminée en utilisant le protocole décrit par Yesil-Celiktas et al. (2007). La capacité de piéger du radical DPPH a été calculée en utilisant l'équation suivante :% d'activité de piégeage du radical libre (RSA) = ((A DPPH – A Echantillon) / A DPPH) * 100 où A DPPH est l'absorbance de la solution de DPPH et A échantillon est l'absorbance de l'échantillon.

RESULTATS

1. Induction des cals

Le taux de germination avait atteint les 100%. Après transfert des plants dans un milieu MS/2 supplémenté avec 1 mg l-1 AIA et 1 mg l-1 BAP, un allongement des pousses et le développement de nouvelles feuilles ont été observés. Après 2 mois de culture, de jeunes feuilles ont été prélevées sur les pousses en croissance et transférées dans un milieu d'induction de cal. Le taux d'induction de cals était de 97,5% sur la partie cotylédonaire des embryons. En ce qui concerne les feuilles, le taux d'induction des cals était 75%. En revanche, la morphologie du cal varie en fonction de l'explant. En fait, les cals dérivés des explants issus de la partie cotylédonaires des embryons (CC) étaient blancs et friables tandis que ceux induits par les feuilles (CL) avaient une couleur jaune à brune et étaient compacts.



Induction de cals chez l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) : a. Cals issus de la partie cotylédonaires des embryons (CC) b. Cals issus des feuilles (CL).

2. Teneur en polyphénols totaux et activité antioxydante

La teneur en polyphénols totaux varie en fonction de la nature des cals utilisés. Les extraits des cals ont montré des valeurs de 0,72 mg EAG / g MS dans les extraits méthanoliques de CL- et de 1,55 mg EAG / g MS dans les extraits méthanoliques de CC.

Teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits d'arganier exprimé en milligramme par gramme équivalent d'acide gallique

Echantillon	Teneur en PPT (mg EAG / g MS)	Activité antioxydante (%)
CC-G84	1.55 + 0.60	82.0 + 0.79
CL-G84	0.72 + 0.28	83.6 + 0.13

Les données sont des moyennes + écart type (n = 3). Origine du matériel végétal : CC, cal obtenu à partir d'explants de cotylédons ; CL, cal obtenu à partir de feuilles issues de semis.

L'activité de piégeage du radical libre (RSA) variait également selon l'origine du cal. La valeur (RSA) la plus élevée (83,6%) a été observée sur les extraits méthanoliques des cals de feuilles.

CONCLUSION

Nous avons évalué et comparé l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols totaux dans les extraits méthanoliques de deux types de cals. L'induction et la prolifération des cals varient considérablement en fonction du type d'explant. Les valeurs de l'activité de piégeage des radicaux libres (RSA) étaient élevées dans les deux échantillons. Le contenu en polyphénols totaux variait selon le matériel végétal utilisé. D'autres études devraient être menées sur la prolifération et l'utilisation des cals de l'arganier comme source renouvelable de production durable des métabolites.

المملكة المغربية
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

ANEF
الوكالة الوطنية للمياه والغابات
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المؤتمر الدولي للأركان

ⵓⵔⴳⴰⵏ ⴰⵎⴰⵙⵙⴰⵏ ⵏ ⵓⵔⴳⴰⵏ

7ème édition

الصويرة
Essaouira
10>12 ماي 2024
10>12 Mai 2024

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⵓⵔⴳⴰⵏ ⵅⵍⴹⴰ ⵏ ⵜⵓⵏⵏⵓⵏⵜ ⵏ ⵜⵉⵣⵉⵣⵜ

Université Mohammed V Faculté des Sciences Rabat

BioBio Biotechnologies Végétale et Microbienne, Biodiversité et Environnement

MAScIR Moroccan Foundation for Advanced Science, Innovation and Research

Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire

Exploring Lipidomic Diversity: A Comparative Analysis of Argan Tree Populations Across Moroccan Regions

EL FAQER Abdelmoiz[1], RABEH Karim[1], RACHIDI Farid[2], EL ARROUSSI Hicham[2,3], BELKADI Bouchra[1]

[1] *Microbiology and Molecular Biology Team, Center of Plant and Microbial Biotechnologies,Biodiversity and Environment, Faculty of Sciences, Mohammed V University, Rabat, Morocco*

[2] *Green Biotechnology Laboratory, Moroccan Foundation for Advanced Science, Innovation and Research (MAScIR), Rabat Design Centre, Rabat, Morocco*

[3] *AgroBioSciences (AgBS) program, Mohammed VI Polytechnic University, Benguérir, Morocco*

Introduction

The argan tree (*Argania spinosa* L.), endemic to Morocco, is pivotal for its ecological resilience and economic importance, particularly through its unique oil. Despite extensive research on its seeds' oil, the lipid composition of argan tree leaves, a crucial factor for understanding environmental adaptability and aiding conservation efforts, remains largely unexplored.

This study aims to elucidate the lipidomic diversity among argan tree populations across three Moroccan regions: Chtouka Ait Baha, Essaouira, and Tiznit. By employing Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), This analysis is intended to contribute to the broader understanding of plant lipidomics and its implications for ecological and agricultural practices.

Methodology

1.Sample Collection:
Leaves were collected from argan trees across three distinct Moroccan regions diverse representation of the lipidomic profiles

2.Lipid Extraction:
Lipids are extracted from the leaves using a chloroform: methanol solvent mixture, with the addition of an internal standard.

3.GC-MS Analysis:
The extracted lipids are then subjected to Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) for separation and identification.

4.Data Processing and Analysis:
Principal component analysis (PCA) and Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) were performed to identify patterns and differences in lipidomic profiles.

Results & Discussion

•**Lipidomic Profiling**: A comprehensive GC-MS analysis across argan tree populations from Chtouka Ait Baha, Essaouira, and Tiznit showed significant regional variations in lipid compositions. Fatty acyls were predominant, with their concentrations being highest in Essaouira. Prenol lipids varied notably, with Chtouka Ait Baha displaying a high proportion (Figure 1).

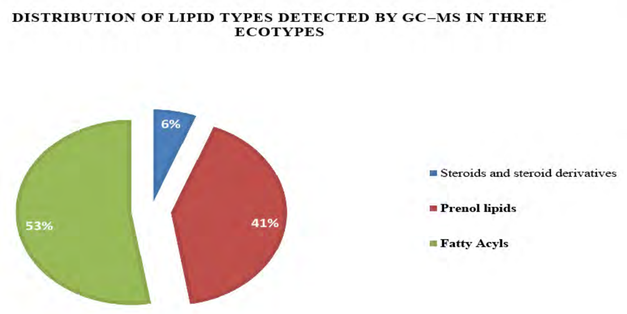


Figure 1. Distribution of lipid types detected by GC–MS in three ecotypes

Metabolic Diversity: PCA and PLS-DA highlighted clear regional segregation, emphasizing metabolic diversity. VIP scores identified linoleic acid and alpha-cyperone among key metabolites marking regional differences (Figure 2).

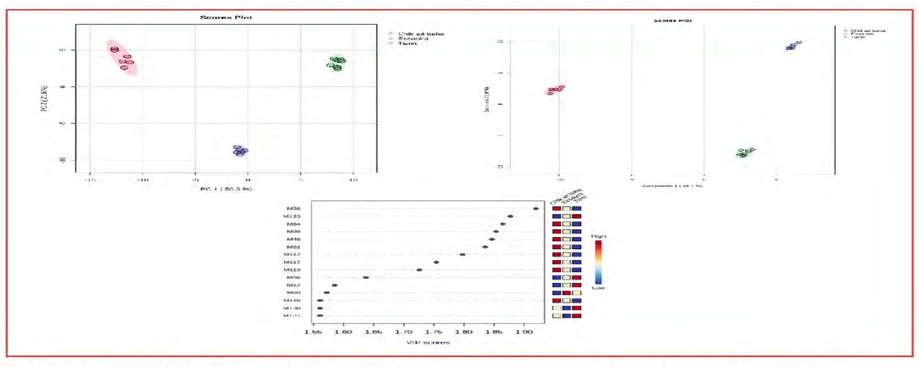


Figure 2. Multivariate analysis of lipidomic data from Argan tree leaves: (a) PCA, (b)PLS-DA Score Plots and (c)VIP Scores by Region

Discussion:

•The observed lipidomic diversity suggests that argan trees have developed unique metabolic adaptations to their local environments.

•The high concentration of fatty acyls in Essaouira indicates a possible adaptation to environmental stressors such as salinity and drought. These fatty acids, including linoleic and arachidic acids, are crucial for maintaining cell membrane integrity under stress.

•The variability in prenol lipids, with significant levels in Chtouka Ait Baha, hints at their role in combating oxidative stress, likely due to high solar radiation in this region.

Conclusion

- The study reveals a complex lipidomic landscape of argan trees across the three regions, suggesting that the trees' metabolic profiles are fine-tuned to their specific environmental conditions.
- The findings offer insights into the argan tree's biochemical strategies for stress tolerance, which vary across different geographical locations, providing valuable information for conservation and sustainable management.

References

1. R. Welti *et al.*, « Plant Lipidomics: Discerning Biological Function By Profiling Plant Complex Lipids Using Mass Spectrometry », *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, vol. 12, 2007, doi: 10.2741/2250.
2. Y. Higashi et K. Saito, « Lipidomic studies of membrane glycerolipids in plant leaves under heat stress », *Progress in Lipid Research*, vol. 75, p. 100990, juill. 2019, doi: 10.1016/j.plipres.2019.100990.
3. L. Gao *et al.*, « Genetic and lipidomic analyses reveal the key role of lipid metabolism for cold tolerance in maize », *Journal of Genetics and Genomics*, juill. 2023, doi: 10.1016/j.jgg.2023.07.004.
4. Y. Peng *et al.*, « Lipidomic and Metabolomic Analyses Reveal Changes of Lipid and Metabolite Profiles in Rapeseed during Nitrogen Deficiency », *Plant and Cell Physiology*, p. pcad128, oct. 2023, doi: 10.1093/pcp/pcad128.

Acknowledgement

We express our sincere gratitude to our supervisor, Pr. BELKADI Bouchra, whose supervision and wisdom have been the guiding light of our project. Special thanks are due to Dr. RABEH Karim, for his dedication and hard work that significantly contributed to our research's success. Equally, our appreciation extends to Dr. EL ARROUSSI Hicham for granting us access to conduct our vital experiments at the Institute of Massir.

المملكة المغربية
ⵜⴰⴳⵍⴷⵉⵜ ⵏ ⵍⵎⵖⵔⵉⴱ
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

الوكالة الوطنية لتنمية مناطق الواحات و شجر الأركان
ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

الوكالة الوطنية للمياه والغابات
ANEF
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL
ARGANIER
المـؤتـمـر الـدولـي للأركــان

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجـر الأركـان فـي مواجهـة التغيـر المناخـي

Argan tree facing the challenge of climate change

7 ème édition
الصويـرة
Essaouira
2024 ماي 12<10
10>12 Mai 2024

المملكة المغربية
Royaume du Maroc
Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

Institut Royal des Techniciens Spécialisés des Eaux et Forêts

ANEF
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS
Centre d'innovation de recherche et de formation

Optimization of the germination of argan seeds: The impact of substrate and seed size

Oumaima Ninich [1,3,*], Mohamed Ouajdi [1], Ismail Etaleb [1,3], Jalila Aoujdad [1], Hayat Oubrahim [1], Nour Eddine Amirat [2], Oussama Zekhnini [2], Fatima Aabidi [2], Najib Magri [1], Salwa El Antry [1].

[1] Centre d'Innovation, de Recherche et de formation (CIRF), Agence Nationale des Eaux et Forêts Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime et du Rural Développement et Eaux et Forêts, BP 763 Agdal Rabat 10050, Maroc ;

[2] Institut Royale des Techniciens Spécialisés des Eaux et Forêt, Maroc;

[3] Mohammed V University in Rabat, B.P:8007.N.U, Avenue des Nations Unies, Agdal, Rabat, Morocco

* Correspondance : oumaima_ninich@um5.ac.ma ; oumaimaninich@research.emi.ac.ma

Abstract

The argan tree is vital for ecosystems and the local economy, offering products like argan oil prized for its medicinal and cosmetic uses. Due to the lengthy production process, above-ground seedling production in rigid containers is garnering interest in forest research. This study aims to evaluate the impact of substrate and seed size on argan tree seedlings. This study investigates the substrate and seed size effects on argan seedling quality. The substrate with 75% peat, 12.5% sand, and 12.5% gravel produced the highest germination rate at 24.76%. Remarkably, medium-sized seeds in 100% peat substrate showed the highest germination rate, reaching 65.71%. These findings emphasize the significance of substrate composition and seed size in argan seedling development. Further research could optimize conditions for enhancing argan seed germination and seedling growth, contributing to argan forest conservation.

Keywords: argan tree; Seed size; Germination rate; Dendrometric measurements; Plant quality.

Introduction

The argan tree is essential to forests and the local economy, offering various products like argan oil. However, traditional seed multiplication methods have limitations. In Morocco, research explores above-ground seedling production. Our study assesses different substrates and calibers' seeds impact on seedling quality to enhance production practices. By improving multiplication methods, we aim to conserve and elevate the value of the argan tree, benefiting both Morocco and beyond.

Materials

The argan seeds used in this study were collected in Sidi Boushab, in the Agadir-Ida-Ou-Tanane region, by the team from the Research and Training Innovation Center.

Methods

A **water test** was conducted to ensure seed quality by immersing the seeds in water and removing those floating on the surface.

To **break seed dormancy** and induce pre-germination, seeds were soaked in hot water for 15 minutes.

The substrates used for seeds of all sizes are as follows: 100% peat; 75% peat and 25% forest soil; 75% peat, 12.5% sand, and 12.5% gravel; and 75% peat and 25% sand. These variations were studied to assess their impact on the growth and development of argan seedlings. Peat, sand, and gravel were sterilized in an oven at 120°C for 2 hours before being used as aerators. The peat was also sterilized and sieved to remove coarse elements.

Light watering was applied using a watering can, repeated three times a week. Weeding was done every three days after germination began. A **phytosanitary treatment** with the fungicide "TACHIGAREN" was also applied.

Monitoring germination kinetics and rate involved regularly examining seedling germination to assess their development. This monitoring was conducted every 3 days.

Morphological characteristics of seedlings were evaluated to track their growth and development :

- Measurement of Seedling Height: The length from the base to the tip was measured using a graduated ruler every 15 days.
- Measurement of Seedling Collar Diameter: Diameter at the base was measured every 15 days using a caliper to determine the thickness of the separation between the root system and the aerial part of the stem.
- Robustness Quotient: Calculated as the height of the stem divided by the collar diameter, this ratio was used as an indicator of seedling robustness.

Results

Germination kinetics of seeds in various substrates

105 argan seeds were placed in trays with different substrates. Germination started after 40 days for all substrates. In 100% peat, 17 seeds germinated over 67 days, with peaks at days 40 and 52. In 75% peat, 12.5% sand, and 12.5% gravel, 26 seeds germinated over 76 days, peaking at day 61. For 75% peat and 25% sand, 22 seeds germinated over 70 days, peaking at day 40. In 75% peat and 25% forest soil, 16 seeds germinated over 76 days, peaking at day 67. Seed counts plateaued across all substrates by day 67-70. (Figure 1).

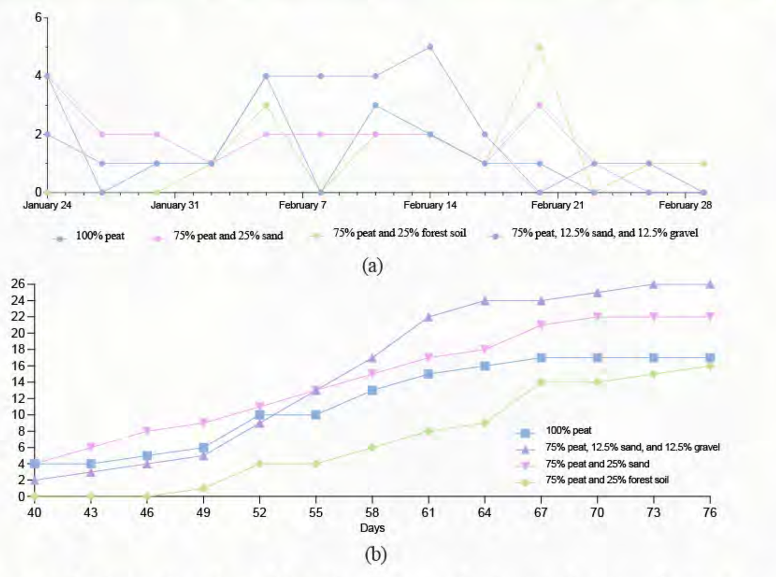


Figure 1. Germination kinetics of seeds in various substrates : (a) The evolution of seed counts (b) The cumulative evolution of seed counts.

Germination Kinetics of different seed sizes

On December 15, 2022, 35 argan seeds of varying sizes were placed in trays, and their germination was monitored for 76 days. Results showed a 40-day delay before germination commenced. Small seeds peaked at 61 days with 15 germinated, medium seeds at 40 days with 23 germinated, and large seeds at 40 days with 19 germinated. All sizes plateaued in germination by day 67–70, as shown in Figure 2.

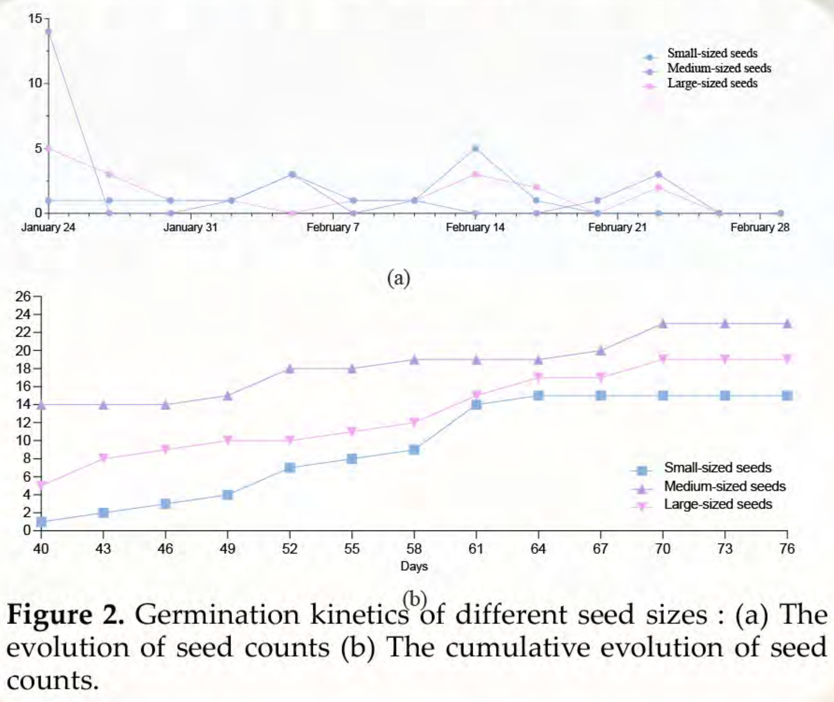


Figure 2. Germination kinetics of different seed sizes : (a) The evolution of seed counts (b) The cumulative evolution of seed counts.

Germination rates

Argan seedling germination rates were highest in a substrate mix of 75% peat, 12.5% sand, and 12.5% gravel (25% rate). Medium-sized seeds showed the highest germination (65%).

In 100% peat, overall germination was 16.19%, with medium seeds at 65.71% and small seeds at 42.85%. Seed size significantly impacts argan seed germination.

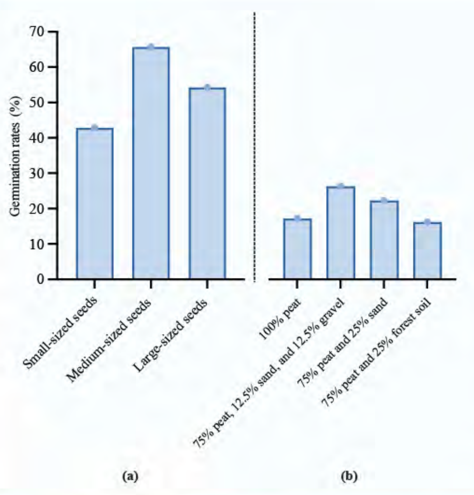


Figure 3. Germination rates of seeds (a) with different sizes ; (b) in various substrates ;

Development and growth of argan seedlings in the nursery

Dendrometric measurements reveal that 100% peat substrate fosters the best height growth (13.22 cm), while a mix of 75% peat and 25% topsoil encourages diameter growth (3.19 mm). Robustness quotient values peak at 4.87 cm/mm for 100% peat and 4.82 cm/mm for a mix of 75% peat, 12.5% sand, and 12.5% gravel. Medium-sized seeds excel in height (16.97 cm), with large and medium seeds showing similar diameter growth (3.07 mm). Robustness quotient values for argan seeds range from 5.23 cm/mm to 5.52 cm/mm, with all sizes thriving in 100% peat substrate. Medium-sized argan seeds reach maximum height (16.97 cm), while small and large seeds reach maximum diameter (3.07 cm) (Table 1).

Table 1. Measurements growth argan Seedlings (H : Heights (cm) ; D : collar diameter (mm) ; RQ : robustness quotient (cm/mm)

	H (cm)	D (mm)	RQ (cm/mm)
Substrates			
100% peat	13.22	2.71	4.88
75% peat, 12.5% sand, and 12.5% gravel	12.16	2.52	4.83
75% peat and 25% sand	11.51	2.85	4.04
75% peat and 25% forest soil	10.77	3.19	3.38
Seed sizes			
Small-sized seeds	15.55	2.91	5.34
Medium-sized seeds	16.97	3.07	5.53
Large-sized seeds	15.77	3.07	5.14

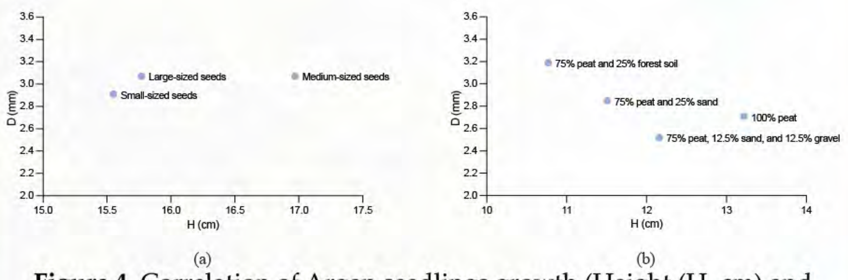


Figure 4. Correlation of Argan seedlings growth (Height (H, cm) and Diameter (D, mm)) (a) with different sizes ; (b) in various substrates.

Discussion

The study delved into the germination kinetics, rates, and nursery development of argan seeds across various substrates and sizes. It found that substrates rich in peat delayed but sustained germination, while those with sand and gravel facilitated earlier germination. Medium-sized seeds showed the highest germination rates and optimal growth in nursery conditions. Contrary to previous studies, which suggested larger seeds perform better, this study observed medium-sized seeds excelling in growth parameters. However, it emphasizes the need for further research on seed size's impact on argan plant growth for better nursery establishment and crop production.

Conclusion

Our research investigated how different substrates and seed sizes impact the quality of argan seedlings. We found that a combination of 75% peat, 12.5% sand, and 12.5% gravel led to the highest germination rate, while using only peat resulted in taller seedlings. Medium-sized seeds performed the best overall, showing the highest germination and growth rates. These findings highlight the importance of refining pre-germination techniques and ensuring high-quality substrates in nursery production. We suggest further exploration of other factors influencing plant quality.

Acknowledgment:

Special thanks to Fouzia Es-sayoudi and Jamila Elgharrouch from the 9th Promotion of Specialized Technician Students 2022-2023 for their valuable contributions to this study.

المملكة المغربية
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

ANDZOA
Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

ANEF
الوكالة الوطنية للمياه والغابات
AGENCE NATIONALE DES EAUX ET FORETS

المعهد الوطني للبحث الزراعي
Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA

CONGRES INTERNATIONAL ARGANIER

المؤتمر الدولي للأركان

ⵓⵔⴳⴰⵏ ⴰⵎⵓⵏⴰⵏ ⵏ ⵓⵔⵣⴰⵏ

7ème édition

الصويرة
Essaouira
2024 ماي 12<10
10>12 Mai 2024

L'Arganier à l'Épreuve du Changement Climatique

شجر الأركان في مواجهة التغير المناخي

Argan tree facing the challenge of climate change

ⵓⵔⵣⴰⵏ ⵅⵍⴹⴰ ⵏ ⵜⵙⵏⵉⵏ ⵏ ⵜⵉⵣⵉⵣⵜ

Seventh International Argan Tree Congress
10-12.05.2024

Effect of mineral and organic fertilizers, on growth young argan trees (*Argania spinosa L.*)

Naima Chabbi [a,b*] , Abdelaziz Mimouni [b] , Salahddine Chafiki [b,c] , Maryem Telmoudi [a,b] , Said El abbassi [a,b] , Redouan Qessaoui [b] , Rachid Bouharroud [b] , Khadija Bendiab [a] , Driss Hsissou [a] and Naima Ait Aabd [b]

a : Laboratory of Agrobiotechnology and Bioengineering, Department of Biology, Faculty of Science Semlalia, Cadi Ayyad University, Marrakech, Morocco.
b : Régional Center of Agronomic Research of Agadir, Institut National de Recherche Agronomique, Avenue Ennasr, BP 415 Rabat Principale, 10090 Rabat, Morocco
c : AgroBioSciences Department (AgBS), Mohammed VI Polytechnic University UM6P)

* Correspondance : n.chabbi.ced@uca.ac.ma*

INTRODUCTION

In today's world, fertilizers play an extremely important role in the enrichment of soil fertility which in turn promotes plant growth (Osman, 2013). Inorganic and organic fertilizers have an important role in increasing agricultural production (Ilahi et al., 2021). *Argania spinosa* (L.), an endemic tree of south-western Morocco, belongs to the Sapotaceae family(Mechqoq et al., 2021). It plays an important ecological, environmental and socio-economic role. Despite its importance, the argan tree population is decreasing drastically in both density and area, and its natural regeneration is practically absent(Ait Hammou et al., 2023; Luis De La Fuente et al., 2023). However, water deficiency and soil infertility considerably reduce the success of plantations(Ouallal et al., 2022).

Aim : Our study aims to evaluate the impact of agricultural practices on vegetative growth parameters of young trees of *Argania spinosa* in two different sites in Souss Massa region

MATERIALS AND METHODS

1- Study site:

The experiment was carried out in the arganiculture platforms among the agricultural development project in vulnerable areas. Two argan fields located in the Souss Massa vulnerable areas, represented by two sites, Tamjlojt (Chtouka Ait Baha) and Rasmouka (Tiznit) have been selected to organic and mineral fertilization tests. Therefore, the present experiment was conducted during two consecutive experimental years (2022 and 2023) on young argan trees (four-year-old) planted at 4x10 meters.

2- Field experiments and treatments

To evaluate the effect of different doses of compost and NPK fertilizers on the growth characteristics of Argania spinosa, eight treatments were applied (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 and T8). T0 as a control without fertilizer application.

Table : Dose and frequency of chemicals and organic fertilizers application

Table 1 Treatments Fertilizers Dose Frequency

Treatments	Fertilizers	Dose			Frequency
T0	No fertilizers	0			-
T1	Chemical fertilizers application g/plant	N	P	K	-
		80	50	70	F1
T2		125	75	100	F1
T3		160	100	140	F2
T4		250	150	200	F2
T5	Organic fertilizers application kg/plant	2.5			F1
T6		5			F1
T7		5			F2
T8		10			F2

2-Materials:

- Soil samples were taken at random from the plots of targeted plants at a depth of 20 cm after removing the thin surface layer.
- From each plot, a number of 6 sub-samples were taken and mixed to form a single composite sample, which formed three replicates, various vegetative growth parameters were taked, including : height, collar diameter, and circumference.

RESULTS AND DISCUSSION

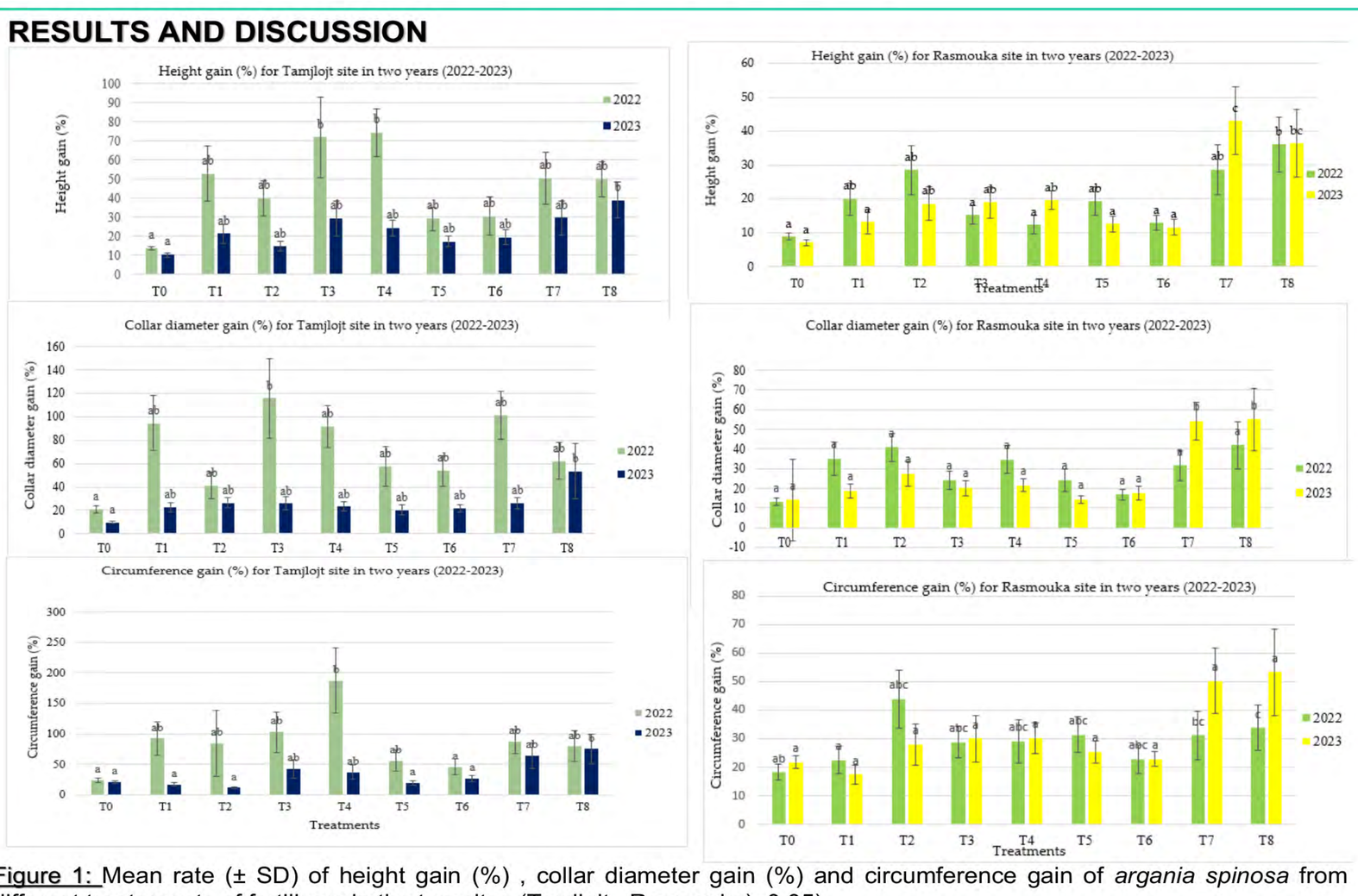


Figure 1: Mean rate (± SD) of height gain (%) , collar diameter gain (%) and circumference gain of *argania spinosa* from different treatements of fertilizers in the two sites (Tamjlojt , Rasmouka). 0.05).

- In terms of agronomics parameters, a significant differences were detected among species within the same site.
- For Tamjlojt site, the highest percentage increase in height was recorded in T4 (F2-250.150.200NPK), with a gain value of 74.31 ± 12.31% in 2022 and in T8 (F2-10 kg/plant Compost), with a gain value of 39.02 ± 9.44% in 2023. The treatments with the highest collar diameter values in 2022 were T3 and T7 at 115.63 ± 33.88 and 101.09 ± 20.84, respectively. In 2023, the highest collar diameter value was found in T8 at 53.35 ± 23.76. Regarding circumference, T4 had the highest value in 2022 at 187.27 ± 53.54% and T8 had the highest value in 2023 at 74.86 ± 24.72%.
- For Rasmouka site, the highest percentage increase in height was recorded in T7, with a value of 43.14±10.06 % in 2023 and in T8, with a value of 35.99 ± 8.04% in 2022. In 2023, the treatments with the highest collar diameter values were T8 and T7, measuring 55.05±15.70% and 54.08±9.64%, respectively. Regarding circumference, T8 and T7 had the highest value in 2023 at 53.36±15.11 and 50.34±11.29 respectively

CONCLUSION

- The Organic and chemical fertilizers a positive effect on improving the growth characteristics of *Argania spinosa*
- The organic fertilization presents the important values compared to the mineral one. the results showed that for the two sites, the treatments T7 and T8 had a positive effect where it increases the different parameters studied.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by national agency for the development of oasis areas and the argan tree

المملكة المغربية
Royaume du Maroc
وزارة الفلاحة والصيد البحري والتنمية القروية والمياه والغابات
Ministère de l'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts

ANDZOA — Agence Nationale pour le Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier

ANEF — Agence Nationale des Eaux et Forêts

المعهد الوطني للبحث الزراعي — Institut National de la Recherche Agronomique

WWW.CONGRESARGANIER.MA