

Évaluation sous serre de la tolérance à la salinité de quelques porte-greffes d'agrumes : *Citrus aurantium* et deux hybrides de *Poncirus trifoliata* (*Poncirus* x *Citrus sinensis* et *Poncirus* x Mandarinier *sunki*)

Atmane Rochdi, J. Lemsellek, A. Bousarhal, Abdellatif Rachidai

Laboratoire Agrophysiologie et Biotechnologie de Culture *in vitro*. Faculté des Sciences. Université Ibn Tofail. B.P. 133, Kenitra 14000 (Maroc).

Reçu le 8 décembre 2003, accepté le 5 juillet 2004.

Afin de déterminer les effets de la salinité sur l'intensité de la chlorose foliaire, la croissance et l'absorption de Na^+ et Cl^- , nous avons cultivé trois porte-greffes (*Citrus aurantium* (*C.a*) ainsi que deux nouveaux hybrides de *Poncirus trifoliata* [*P.t.* x *C. sinensis* (*PXC*) et *P.t.* x *M. sunki* (*PXM*)] dans des solutions nutritives contenant 0, 35 ou 70 mM NaCl pendant 30 et 60 jours. Les dégâts foliaires augmentent avec la durée de traitement et la concentration en NaCl. L'intensité et la fréquence de la chlorose occasionnée après 30 jours de stress salin révèlent la sensibilité du porte-greffe *PXC* et la tolérance de *PXM*. En outre, si la croissance apicale du porte-greffe *C.a* n'est pas affectée par 35 mM NaCl, elle est par contre stimulée chez *PXM* et inhibée chez *PXC*. La concentration 70 mM NaCl affecte plus sévèrement la vigueur des porte-greffes et montre la tolérance de *PXM* et la sensibilité de *PXC*. D'autre part, la biomasse diminue avec le temps pour tous les traitements et les porte-greffes. Toutefois, il apparaît que la concentration 35 mM NaCl est insuffisante pour la discrimination entre les porte-greffes vis-à-vis du stress salin. En revanche, à 70 mM NaCl, la réduction de la biomasse confirme la sensibilité de *PXC* et prouve la tolérance de *PXM*. Par ailleurs, les teneurs des feuilles en Cl^- et Na^+ sont significativement affectées par la salinité, la durée du stress et le facteur porte-greffes (*PXM* paraît être excluante efficace de Cl^-) et elles sont corrélées avec les symptômes de toxicité. En outre, la teneur en ions salins est corrélée à la réduction de la biomasse de *PXC*. Par conséquent, en plus des effets inhibiteurs des hautes concentrations de Cl^- et Na^+ , un déséquilibre d'éléments nutritifs essentiels peut aussi concourir à la réduction de la croissance de ce porte-greffe sous les conditions de stress.

Mots-clés. Citrus, porte-greffes, salinité, NaCl, tolérance, croissance, nutrition.

Citrus rootstocks response to salinity. To determine the effects of salinity on the intensity of chlorosis, growth and uptake of Na^+ and Cl^- , we grew three Citrus rootstocks (sour orange *Citrus aurantium* (*C.a*) and two new hybrids of *Poncirus trifoliata* [*P.t.* x *Citrus sinensis* (*PXC*) and *P.t.* x *Mandarinier sunki* (*PXM*)] in nutrient solutions containing 0, 35 or 70 mM NaCl during 30 or 60 days. Foliar damages increase with time for all treatments and rootstocks. The intensity and the frequency of the chlorosis caused after 30 days of saline stress reveal the sensitivity of *PXC* and the tolerance of *PXM*. Moreover, if apical growth of the *C.a* is not affected by 35 mM NaCl, it is stimulated on the other hand for *PXM* and is inhibited for *PXC*. The concentration 70 mM NaCl affects the vigour of rootstocks more severely and shows the tolerance of *PXM* and the sensitivity of *PXC*. The biomass decreases with time for all treatments and rootstocks. However, it appears that the concentration 35 mM NaCl is insufficient for the discrimination between rootstocks against salt stress. But, at 70 mM NaCl, the reduction of the biomass confirms the sensitivity of *PXC* and proves the tolerance of *PXM*. Furthermore, the content of leaves in Cl^- and Na^+ is affected meaningfully by salinity, time of stress and rootstocks (*PXM* appears to be efficient excluding of Cl^-). Contents in Na^+ and Cl^- are correlated with foliar toxicity symptoms. This content is also correlated with biomass reduction of *PXC*. Therefore, in addition to inhibitory effects of high concentrations of Cl^- and Na^+ , an imbalance of essential nutrients may also contribute to the reduction in growth of this rootstocks under saline conditions.

Keywords. Citrus, rootstocks, salinity, NaCl, tolerance.

1. INTRODUCTION

Les agrumes sont généralement cultivés dans des régions semi-arides où l'irrigation est nécessaire. Dans ces régions, beaucoup de sols et eaux contiennent des teneurs en sels qui peuvent inhiber la croissance et le rendement de l'agrumiculture. Plusieurs causes sont évoquées pour expliquer le déterminisme de la réduction de la croissance sous les conditions de stress salin : diminution du contrôle du statut hydrique (Flowers, Yeo, 1986), désordre nutritionnel (Tester, Davenport, 2003), ralentissement de la synthèse protéique, perturbation de la stabilité des structures membranaires et inhibition de l'activité des enzymes (Blaha *et al.*, 2000), changements dans l'extensibilité de la paroi cellulaire, en relation avec sa composition protéique (Hasegawa *et al.*, 1984), réduction de la capacité photosynthétique (Munns, 1993) et altération du métabolisme hormonal (Wilkinson, Davies, 2002).

Par ailleurs, le bigaradier constitue le porte-greffe de fond (95 % des plantations agrumicoles sont réalisées sur le bigaradier) dans la région méditerranéenne, en raison de son adaptation à plusieurs types de sol, de sa meilleure affinité avec la plupart des variétés commerciales et de sa bonne résistance à la gommose à *Phytophthora* (Loussert, 1985). Toutefois, sa sensibilité à la Tristeza – maladie virale considérée comme étant la plus destructrice pour les agrumes – constitue une grande menace pour l'agrumiculture méditerranéenne. En conséquence, des porte-greffes résistants au virus de la Tristeza et aux gommoses à *Phytophthora*, avec aussi une tolérance vis-à-vis de la salinité comparable à (ou plus élevée que) celle de *C. aurantium* sont nécessaires. En effet, bien que les agrumes soient classés comme espèces sensibles à la salinité (Maas, 1993), il y a une grande variation dans la capacité de tolérer la salinité selon le porte-greffe (Levy *et al.*, 1999) et la variété greffée (Lloyd *et al.*, 1990).

Dans ce travail, nous étudions la tolérance à la salinité de quelques hybrides de *Poncirus trifoliata*, résistants au virus de la Tristeza, en vue de leur utilisation en tant que remplaçants éventuels du porte-greffe Bigaradier.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Matériel végétal

L'essai a porté sur des plants de deux ans de trois porte-greffes d'agrumes : *Citrus aurantium* (*C.a*) ainsi que deux nouveaux hybrides de *Poncirus trifoliata* [*P.t. x Citrus sinensis* (*PXC*) et *P.t. x Mandarinier sunki* (*PXM*)].

2.2. Conditions de culture et de stress

L'expérimentation est conduite dans un tunnel en plastique (INRA, Station El Menzeh) sous des températures comprises entre 20 °C la nuit et 34 °C le jour. Avant le début du traitement salin et pendant un mois, des plants uniformes (18 plants de chaque porte-greffe), cultivés individuellement sur substrat sableux (48 % sable grossier, 41 % sable fin, 1 % limon, 10 % argile ; pH=7,2 ; CE 'rapport 1/5'=1,14 mS/Cm) en pots de 10 l de volume et à drainage libre, sont irrigués trois fois par semaine et ce jusqu'à la capacité au champ (CC), avec une solution nutritive contenant les macro-éléments (diluée de moitié) de Hoagland et Arnon (1950) et les micro-éléments de McCown et Lloyd (1981). Le pH de la solution d'arrosage est ajusté à 5 avec H₂SO₄ et/ou KOH.

Le sel est apporté graduellement (durant une semaine) dans la solution d'irrigation afin d'atteindre des concentrations finales de 0, 35 et 70 mM NaCl, soit les traitements T₀, T₁ et T₂. L'arrosage est effectué tous les deux jours, pour compenser les pertes dues à l'évapotranspiration, laquelle a été majorée de 30 % afin d'obtenir une lixiviation des sels en excès. Parallèlement et en vue d'éviter l'effet cumulatif de l'apport du sel dans le substrat, un lessivage à l'eau de forage (CE : 0,46 mS/Cm ; pH : 7,5) est pratiqué chaque semaine, suivi par un apport de la solution d'irrigation jusqu'à la CC.

2.3. Symptomatologie et mesure de la croissance

Les dégâts foliaires (Munns, 1993), la hauteur (Noble, Rogers, 1992) et la croissance relative des plants (Cramer *et al.*, 1990) sont parmi les paramètres utilisés pour l'étude de la tolérance à la salinité.

Intensité de la chlorose. La résistance aux dégâts foliaires, comme critère de comparaison, est basée sur le fait que l'absence de la chlorose est généralement indicatrice des variétés les plus aptes à exclure les sels. L'intensité des symptômes de toxicité est évaluée à 15, 30, 45 et 60 jours selon l'échelle établie par Goell (1969).

Mesure de la croissance. La croissance apicale est estimée par le taux de croissance en hauteur linéaire (TC_h) :

$$TC_h = (H_f - H_i) / H_i$$

avec

- H : hauteur,
- i : initiale,
- f : à 15, 30, 45 ou 60 jours

et le taux relatif aux témoins (TC_{hR}) :

$$TC_{hR} = 100 \times (TC_h \text{ traité} / TC_h \text{ témoin}).$$

La biomasse, déterminée par type d'organe, des plants récoltés à un ou deux mois de stress salin, est mesurée par la masse de matière fraîche (MF), puis sèche (MS) après séchage dans une étuve à ventilation à 70 °C pendant 48 heures. La teneur en eau exprimée en % MF ($TE = 100 \times (MF - MS)/MF$) et la teneur relative exprimée en % du témoin ($TRE = 100 \times (TE \text{ traité}/TE \text{ témoin})$) sont alors calculées à un et deux mois.

Plutôt que de comparer des taux de croissance absolus, la tolérance à la salinité est exprimée comme réduction relative de la masse de matière (en % des témoins) qui est une indication de la vigueur relative de la plante sous les conditions de stress salin ($\% \text{ de réduction} = 100 \times (\text{témoin} - \text{traitement})/\text{témoin}$).

2.4. Analyse minérale

L'analyse minérale a concerné des échantillons composites de feuilles prélevées à un ou deux mois sur la portion médiane de la tige principale. La minéralisation de ces échantillons est faite par calcination au four à Moufle à 400 °C pendant une nuit (12 heures). Pour le dosage des ions Na^+ , les cendres obtenues sont traitées par une solution de mélange d'acides (HCl 10 %, HNO_3 10 %) puis chauffées pour activer la réaction. Les solutions obtenues sont jaugées à l'eau distillée à 100 ml sur lesquelles on dose l'élément sodium par photométrie à flamme. Les ions Cl^- sont d'abord fixés par $Ca(OH)_2$ avant d'être minéralisés puis sont titrés selon la méthode de Cotlove (1965). L'accumulation des ions salins est exprimée en pourcentage du témoin ($\% \text{ d'accumulation} = 100 \times (\text{traitement} - \text{témoin})/\text{témoin}$).

2.5. Analyse statistique

Le dispositif expérimental est un split-split-plot avec arrangement aléatoire des répétitions. Ce dispositif est composé de trois blocs dont les grandes parcelles sont destinées au facteur durée de stress, les parcelles secondaires étant réservées au facteur traitement salin et les parcelles élémentaires au facteur porte-greffes d'agrumes.

Les données ont été soumises à l'analyse de la variance (ANOVA) en utilisant les modèles linéaires généraux du logiciel SAS. Pour stabiliser les variances, les données quantitatives ont été transformées par le logarithme (*masse*)

$$\log_{10}(1 + m)$$

ou par l'Arc sinus de la racine carrée (pourcentages) (Gomez, Gomez, 1984)

$$\text{Arc sin} \left(\sqrt{p} \right).$$

3. RÉSULTATS

3.1. Symptomatologie et croissance des plants

Symptômes de toxicité. Le suivi des symptômes pathologiques (Tableau 1) montre que la sévérité de la toxicité foliaire diffère selon les porte-greffes et augmente en parallèle avec la durée et la concentration du stress salin. Ainsi, un début de chlorose avec jaunissement des bordures et de la partie terminale des feuilles (niveau de symptômes pathologiques d'indice 2) a été enregistré après irrigation pendant 15 jours par la dose 70 mM NaCl et en premier lieu chez *PXC*, lequel a également présenté ce niveau de sensibilité avec la plus faible dose saline (35 mM) après un mois de stress. À cette même date, le porte-greffe *C.a* a aussi montré une chlorose débutante (indice 2) avec le traitement 70 mM NaCl. Par contre, les feuilles de *PXM* sont restées vert-clair (indice 1) pour tous les traitements appliqués pendant un mois. La chlorose prononcée (indice 3) n'a été développée qu'avec 70 mM NaCl au bout d'un mois de traitement chez *PXC* et après deux mois chez tous les porte-greffes étudiés.

Tableau 1. Variation du nombre des plants symptomatiques des porte-greffes en fonction du temps — *Number of the symptomatic plants of rootstocks in relation to time.*

Jours	Indice de toxicité selon Échelle de Goell	<i>C.a</i>	<i>PXC</i>	<i>PXM</i>
15	0	10	8	14
	1	8	8	4
	2	-	2	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-
30	0	6	6	10
	1	6	2	8
	2	6	8	-
	3	-	2	-
	4	-	-	-
45	0	3	3	4
	1	2	-	4
	2	4	4	1
	3	-	2	-
	4	-	-	-
60	0	3	3	3
	1	-	-	1
	2	4	2	4
	3	2	3	1
	4	-	1	-

L'analyse statistique de l'expression symptomatique de la toxicité foliaire montre une différence très hautement significative pour les trois facteurs (porte-greffe, NaCl et durée). L'effet de la concentration saline ($T_0 < T_1 < T_2$) est très hautement significatif à 15, 30, 45 et 60 jours de stress. Les porte-greffes ne diffèrent pas significativement à 15 jours mais la différence est significative à 1 % à 30 jours ($PXM < C.a = PXC$) et à 1 % à 45 jours ($PXM < C.a < PXC$) avec *PXC* ayant développé plus de symptômes de sensibilité. Cette différence s'atténue à 60 jours du fait de la généralisation des symptômes de chlorose chez les trois porte-greffes étudiés.

Croissance des plants

Hauteur linéaire. La vigueur est affectée négativement par le degré du stress (**Tableau 2**). D'autre part, si pour les plants témoins, le taux de croissance linéaire TC_h évolue uniformément pour tous les porte-greffes, en présence de NaCl, ce taux montre que *PXC* est relativement plus affecté par le traitement salin. En effet, le taux de croissance linéaire relative TC_{hR} (**Figure 1**) montre que la présence de NaCl à 35 mM stimule la croissance apicale du porte-greffe *PXM* ($TC_{hR} > 100\%$) et affecte peu celle de *C.a* ($100\% >$

Tableau 2. Variation du taux de croissance linéaire (TC_h) des porte-greffes (dates confondues) en fonction du traitement salin — *Linear growth rate of rootstocks.*

	0 mM NaCl			35 mM NaCl			70 mM NaCl		
	<i>PXM</i>	<i>C.a</i>	<i>PXC</i>	<i>PXM</i>	<i>C.a</i>	<i>PXC</i>	<i>PXM</i>	<i>C.a</i>	<i>PXC</i>
TC_h	16,51	18,51	19,87	18,24	15,26	5,89	13,56	10,29	3,90
TC_h moyen	18,30			13,13			9,25		
TC_{hR} moyen 100 %				72 %			51 %		

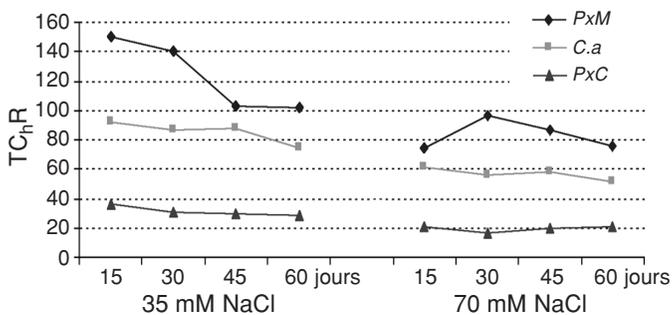


Figure 1. Variation du taux de croissance linéaire relative en fonction du traitement salin et de la durée du stress — *Relative linear growth rate.*

$TC_{hR} > 80\%$) mais inhibe fortement celle de *PXC* ($TC_{hR} \approx 30\%$ à 15, 30, 45 et 60 jours). La concentration 70 mM NaCl affecte plus sévèrement la vigueur et le pourcentage de réduction atteint 17,9 pour *PXM*, 44,4 pour *C.a* et 80,4 pour *PXC* (dates confondues).

L'analyse de la variance sur la croissance apicale (**Tableau 3**) montre une différence très hautement significative pour l'effet de NaCl ($T_0 > T_1 > T_2$) à 15, 30, 45 et 60 jours. Les porte-greffes diffèrent au seuil de 1% à 15 jours ($PXM = C.a > PXC$) et de 1% à 30, 45 et 60 jours ($PXM > C.a > PXC$).

Masse de matière fraîche. La masse de matière fraîche, déterminée à un et deux mois de traitement, est réduite sous l'effet du stress salin (**Tableau 4**) et cette diminution est toujours moins importante pour *PXM*. L'analyse de la variance pour les variables MF totale et aérienne (**Tableau 5**) montre un effet significatif de la durée du stress et très hautement significatif de la concentration de NaCl et du facteur

Tableau 3. Analyse de la variance pour la variable hauteur linéaire — *Analysis of the variance for the variable linear height.*

Source	dl	C.M.	F.Obs.	Pr > F
ANOVA 3				
Durée (D)	3	0,19536391	1021,33	0,0001
Salinité (S)	2	0,17648234	442,17	0,0001
Porte-greffe	2	0,12108295	124,82	0,0001
D × Pg	6	0,00304390	3,14	0,0112
S × Pg	4	0,05900483	60,82	0,0001
D × S	6	0,00530833	13,30	0,0001
Erreur	48	0,00097010		
Total	107			
ANOVA 2 à 15 jours				
Salinité	2	0,03409404	23,83	0,0001
Porte-greffe	2	0,01448826	10,13	0,0027
S × Pg	4	0,01022159	7,14	0,0035
Erreur	12	0,00143065		
ANOVA 2 à 30 jours				
Salinité	2	0,02816878	31,24	0,0001
Porte-greffe	2	0,02529678	28,05	0,0001
S × Pg	4	0,01995189	22,13	0,0001
Erreur	12	0,00090169		
ANOVA 2 à 45 jours				
Salinité	2	0,04387226	40,33	0,0001
Porte-greffe	2	0,03610237	33,19	0,0001
S × Pg	4	0,01645331	15,13	0,0001
Erreur	12	0,00108778		
ANOVA 2 à 60 jours				
Salinité	2	0,08627226	187,44	0,0001
Porte-greffe	2	0,05432726	118,03	0,0001
S × Pg	4	0,01867637	40,58	0,0001
Erreur	12	0,00046028		
Total	26			

Tableau 4. Variation de la matière fraîche aérienne et racinaire en fonction du traitement et de la durée du stress salin — *Aerial and root fresh matter.*

Durée de culture	1 mois			2 mois		
	0	35	70	0	35	70
Concentration en NaCl (mM)						
MF aérienne (g)						
<i>PXM</i>	46,92	46,15	34,87	58,60	49,12	39,36
<i>C.a</i>	28,46	24,26	20,95	54,16	44,05	35,27
<i>PXC</i>	49,22	39,90	28,66	57,39	41,59	33,66
MF racinaire (g)						
<i>PXM</i>	29,41	26,85	18,84	21,90	20,76	19,62
<i>C.a</i>	15,46	13,01	9,69	16,10	14,54	10,82
<i>PXC</i>	17,40	14,80	8,77	16,93	15,11	9,09

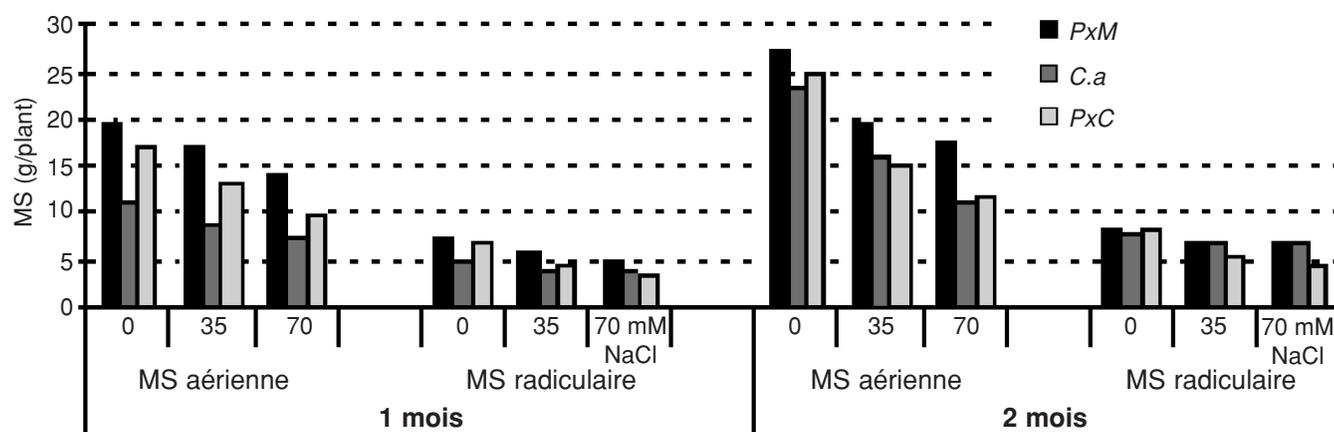
porte-greffes. Le traitement des données par date de récolte révèle que l'effet de la concentration saline est significatif à 1% pour MF totale et MF aérienne à un et deux mois et à 5% pour MF racinaire à un mois mais non significatif à deux mois. Par contre, pour le facteur porte-greffe, l'effet sur les trois variables est significatif à 1% pour le 1^{er} mois, mais non significatif pour le 2^e mois de stress salin.

Le classement des moyennes, pour les variables MF totale et MF aérienne, quant à l'effet des concentrations salines, montre que T0 > T1 > T2 (T2 étant plus néfaste) et que pour MF racinaire, T0 et T1 forment un groupe homogène et T2 est la plus dépressive. D'autre part, la réaction des porte-greffes vis-à-vis du traitement salin montre que les réductions les plus faibles ont été enregistrées chez *PXM*.

Tableau 5. Analyse de la variance pour les variables MF totale, aérienne et racinaire — *Analysis of the variance for the variable total, aerial and root fresh matter.*

Source	dl	C.M.	F.Obs.	Pr > F
MF totale				
Durée	1	0.07282017	19.30	0.0481
Salinité	2	0.14347746	21.22	0.0006
Porte-greffe	2	0.11063613	11.18	0.0004
D x Pg	2	0.05488517	5.54	0.0105
D x S	2	0.00283772	0.42	0.6710
S x Pg	4	0.00463696	0.47	0.7583
Erreur	24	0.00990028		
MF aérienne				
Durée	1	0.13680600	39.74	0.0243
Salinité	2	0.14696772	17.72	0.0012
Porte-greffe	2	0.08520956	9.32	0.0010
D x Pg	2	0.04932200	5.39	0.0116
D x S	2	0.00662817	0.80	0.4826
S x Pg	4	0.00316036	0.35	0.8444
Erreur	24	0.00914238		
MF racinaire				
Durée	1	0.00027563	0.04	0.8522
Salinité	2	0.11635850	10.90	0.0052
Porte-greffe	2	0.24498006	11.62	0.0003
D x Pg	2	0.06657191	3.16	0.0606
D x S	2	0.00125857	0.12	0.8903
S x Pg	4	0.01552572	0.74	0.5764
Erreur	24	0.02108730		
Total	53			

Masse de matière sèche. La baisse de production de biomasse sèche (**Figure 2**) est une réponse classique à la contrainte saline. Le pourcentage de réduction de la masse de matière sèche, à un et deux mois de salinité, augmente avec le traitement salin et cette réduction est faible pour *PXM* mais plus accusée pour l'hybride

**Figure 2.** Variation de la matière sèche aérienne et racinaire en fonction du traitement salin et de la durée du stress — *Aerial and root dry matter.*

PXC (Tableau 6). L'analyse de la variance pour les variables MS totale et aérienne (**Tableau 7**) montre un effet significatif de la durée du stress et des effets très hautement significatifs de la concentration en NaCl et

Tableau 6. Pourcentage de réduction de la matière sèche (MS) en fonction du traitement et de la durée du stress salin — *Percentage of reduction of the dry matter.*

Durée de culture	MS à 1 mois		MS à 2 mois	
	35	70	35	70
Concentration en NaCl (mM)				
MS totale				
<i>PXM</i>	16,01	28,08	25,34	30,41
<i>C.a</i>	21,93	30,63	26,09	43,88
<i>PXC</i>	26,67	43,61	38,48	52,97
MS aérienne				
<i>PXM</i>	14	26,92	28,33	34,67
<i>C.a</i>	19,56	34,57	31,26	50,51
<i>PXC</i>	22,87	43,98	39,12	53,88
MS radicaire				
<i>PXM</i>	22	31,09	15,59	16,47
<i>C.a</i>	27,02	23,30	11,09	15,92
<i>PXC</i>	36,16	48,42	36,56	46,22

Tableau 7. Analyse de la variance pour les variables MS totale, aérienne et radicaire — *Analysis of the variance for the variable total, aerial and root dry matter.*

Source	dl	C.M.	F.Obs.	Pr > F
MS totale				
Durée	1	0.23866852	54.00	0.0180
Salinité	2	0.18954369	53.98	0.0001
Porte-greffe	2	0.10436791	19.85	0.0001
D × Pg	2	0.03192891	6.07	0.0073
D × S	2	0.00559613	1.59	0.2615
S × Pg	4	0.00607374	1.16	0.3551
Erreur	24	0.12619200		
MS aérienne				
Durée	1	0.24267407	93.22	0.0106
Salinité	2	0.21399524	44.63	0.0001
Porte-greffe	2	0.14118096	29.20	0.0001
D × Pg	2	0.03005785	6.22	0.0067
D × S	2	0.01396591	2.91	0.1121
S × Pg	4	0.00545330	1.13	0.3668
Erreur	24	0.00483449		
MS radicaire				
Durée	1	0.15778817	20.13	0.0463
Salinité	2	0.09974857	43.54	0.0001
Porte-greffe	2	0.03939169	5.56	0.0104
D × Pg	2	0.02438939	3.44	0.0485
D × S	2	0.00128372	0.56	0.5919
S × Pg	4	0.01048346	1.48	0.2394
Erreur	24	0.00708362		
Total	53			

du facteur porte-greffe. Le classement des moyennes, quant à l'effet du NaCl, montre que T0 > T1 > T2 pour les variables MS totale et MS aérienne et T0 > T1 = T2 pour MS radicaire. En outre, les réductions les plus faibles de la MS aérienne sont enregistrées chez *PXM* et aucune distinction nette n'est décelée entre les autres porte-greffes (*C.a* ≈ *PXC*).

Par ailleurs, si nous considérons la moyenne (par porte-greffe et par concentration saline) au 1^{er} mois (t1) comme étant la masse initiale (M1) et au 2^e mois (t2) comme étant la masse finale (M2), nous pouvons alors calculer la croissance moyenne relative (**Tableau 8**) (Zid, Grignon, 1986)

$$CMR = (M2-M1)/(t2-t1) (M2+M1)/2,$$

laquelle est plus affectée pour *PXC*, ce qui témoigne de la sensibilité de ce porte-greffe.

Nous signalons que la teneur relative en eau ne dépend pas significativement de la concentration en NaCl du milieu. Ce contrôle de l'hydratation révèle une bonne aptitude d'ajustement du potentiel osmotique chez les agrumes.

3.2. Analyse minérale

La présence de NaCl dans la solution d'irrigation entraîne l'augmentation de la teneur foliaire en sodium et en chlorures (**Figure 3**). Chez les témoins, cette accumulation se fait dans un rapport légèrement supérieur à l'unité, avec prédominance du cation. Les teneurs les plus élevées en Na⁺ sont enregistrées chez le porte-greffe *C.a* et les plus faibles chez *PXC*. Par contre, pour les ions Cl⁻, les teneurs les plus faibles sont notées chez *PXM*. En outre, les plants de *PXM* et *C.a* montrent des teneurs plus élevées en Na⁺ qu'en Cl⁻,

Tableau 8. Croissance moyenne relative — *Relative average growth.*

	CMR		TCMR = 100 Traité/T0	
	MS totale	MS aérienne	MS totale	MS aérienne
0 mM Na Cl				
<i>PXM</i>	0,009	0,009	100 %	100 %
<i>Ca</i>	0,021	0,024	100 %	100 %
<i>PXC</i>	0,012	0,012	100 %	100 %
35 mM Na Cl				
<i>PXM</i>	0,008	0,008	90,09	88,89
<i>Ca</i>	0,019	0,019	90,69	80,07
<i>PXC</i>	0,005	0,005	40,06 <50 %	40,93 <50 %
70 mM Na Cl				
<i>PXM</i>	0,007	0,007	78,83	79,35
<i>Ca</i>	0,015	0,013	69,38	55,31
<i>PXC</i>	0,004	0,004	33,33 <50 %	32,74 <50 %

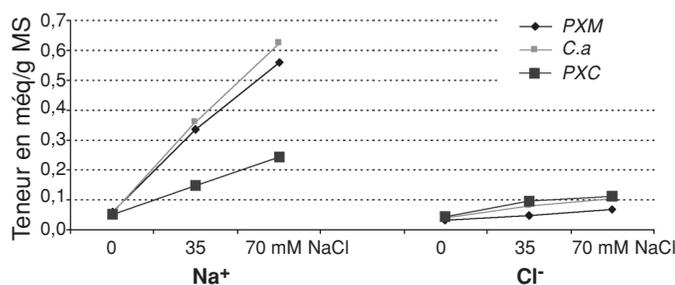


Figure 3. Variation de la teneur en Na⁺Cl⁻ foliaire en fonction de la concentration en NaCl de la solution d'irrigation — *Content of leaves in Na⁺ and Cl⁻.*

indiquant l'exclusion de Cl⁻ par rapport à Na⁺. Ces résultats sont confirmés par la comparaison des pourcentages d'accumulation par rapport aux témoins cultivés en l'absence de NaCl (**Tableau 9**).

L'analyse de la variance montre un effet hautement significatif des trois facteurs étudiés (durée du stress, salinité et porte-greffe). Concernant les teneurs foliaires en Na⁺ et [Na+Cl], le classement des moyennes montre que $C.a > PXM > PXC$. Par contre, relativement à la teneur en ions Cl⁻, cette hiérarchisation devient $PXC > C.a > PXM$. D'autre part, pour les trois variables mesurées, le classement des concentrations de NaCl utilisées montre que $T_2 > T_1 > T_0$.

L'étude des corrélations (**Tableau 10**) montre que les teneurs foliaires en sodium et chlorures sont hautement et positivement corrélées aux symptômes foliaires de tous les porte-greffes. Pour PXC, la corrélation est très élevée mais négative entre l'élément Na⁺ et la masse des matières sèches totale et foliaire. En outre, la corrélation, entre Cl⁻ et MS, est élevée et négative, chez ce même porte-greffe. Par contre, C.a présente une corrélation moyenne et négative entre Na⁺ et MS ; mais la réduction de la matière sèche n'est pas corrélée aux teneurs foliaires en Cl⁻. Cependant, chez PXM, aucune corrélation significative n'est enregistrée entre MS et les teneurs en ions salins.

4. DISCUSSION

Les effets néfastes des sels se manifestent au niveau de la plante entière, mais ils sont plus perceptibles sur les feuilles. L'expression symptomatique de la toxicité foliaire augmente avec la concentration en NaCl dans la solution d'irrigation. D'autre part, l'intensité et la fréquence des symptômes pathologiques révèlent une bonne tolérance du porte-greffe PXM et une sensibilité relativement accrue de PXC. Toutefois, ces différences de comportement s'estompent à 60 jours de stress, du

Tableau 9. Taux d'accumulation foliaire en Na⁺, Cl⁻ et [Na+Cl] par rapport aux témoins T0 à l'issue d'un traitement de 2 mois — *Rate of accumulation of foliar Na⁺, Cl⁻ and [Na+Cl] in relation to the test plants T0 after 2 months treatment.*

	35 mM			70 mM		
	Na ⁺	Cl ⁻	[Na+Cl]	Na ⁺	Cl ⁻	[Na+Cl]
PXM	409,5	31,4	302	819,7	95,1	560
C.a	654,2	90,4	357	999,5	118	664
PXC	308,9	110	173	382,2	153	275

Tableau 10. Corrélations entre les teneurs foliaires en ions salins et la masse de matière sèche totale et foliaire — *Correlations between contents of leaves in saline ions and the mass of total and foliar dry matter.*

	PXM		C.a		PXC	
	Na ⁺	Cl ⁻	Na ⁺	Cl ⁻	Na ⁺	Cl ⁻
Symptômes	0,85	0,79	0,97	0,98	0,95	0,92
	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
MS totale	-0,43	-0,37	-0,57	-0,21	-0,78	-0,65
	0,0784	0,1369	0,0286	0,4008	0,0001	0,0038
MS foliaire	-0,32	-0,30	-0,57	-0,31	-0,72	-0,60
	0,1958	0,2232	0,0326	0,2056	0,0007	0,0124

fait de la généralisation des symptômes de chlorose chez tous les porte-greffes. Cette toxicité peut être due à une nocivité spécifique des ions Cl⁻ et/ou Na⁺ accumulés à des niveaux excédant la capacité de compartimentage (Flowers, Yeo, 1986).

Concernant la croissance, l'effet général de la salinité se traduit par la réduction de la biomasse. Toutefois, le taux de réduction diffère selon le degré de stress salin, les porte-greffes et l'organe considéré. En effet, la croissance apicale est relativement plus affectée pour le porte-greffe PXC. D'autre part, la réduction de la biomasse des porte-greffes en fonction des traitements salins révèle des réactions variables selon la date de récolte et le paramètre pris en considération. Ainsi, pour la matière fraîche, les réductions les plus accusées ont été enregistrées après un mois de stress chez PXC. Pour le paramètre matière sèche, les réductions les plus faibles sont enregistrées chez PXM, que ce soit pour la 1^{ère} ou la 2^e récolte. Le pourcentage de réduction de la matière sèche, généralement considéré comme indice de sensibilité des plantes vis-à-vis du stress, montre que la concentration 35 mM NaCl est insuffisante pour causer une réduction relative de 50 % par rapport aux témoins (seuil très utilisé pour le classement de la tolérance des plantes). Par contre, la concentration 70 mM NaCl appliquée pendant deux mois peut être utilisée pour la discrimination entre les porte-greffes,

puisqu'elle entraîne des réductions plus marquées (54, 51 et 35 % MS aérienne ; 53, 44 et 30 % MS totale respectivement pour *PXC*, *C.a* et *PXM*). Ces résultats attestent d'une bonne tolérance au stress salin pour le porte-greffe *PXM*. Par contre, le porte-greffe *PXC* s'avère être plus sensible vis-à-vis de la salinité. En outre, à l'échelle de la plante entière, l'impact de la salinité est perçu en premier lieu au niveau des racines. Or, pendant le premier mois de stress, *PXM* se caractérise par un système racinaire relativement plus développé. Par conséquent sa capacité d'exploration et d'exploitation des éléments nutritifs du sol est plus importante, ce qui aurait contribué à sa performance.

Certains chercheurs ont noté que la réduction de la croissance, sous l'effet du stress salin, peut avoir lieu sans signes de toxicité (Levy *et al.*, 1999). Walker *et al.* (1982) quant à eux, suggèrent que la diminution de la croissance (exprimée par la capacité photosynthétique) pourrait être en relation avec une perte de turgescence. Chez *Citrus aurantium*, cette diminution serait principalement due à l'effet osmotique de la salinité (Ruiz *et al.*, 1999). Par contre, d'autres études ont montré que la diminution de la turgescence n'est pas la cause de la réduction de la croissance du bigaradier (Fernandez-Ballester *et al.*, 1998). Ceci concorde avec nos résultats puisque les plants de tous les porte-greffes ont présenté un bon ajustement osmotique, l'hydratation des plants ayant toujours été maintenue sensiblement égale à celle des témoins. Ainsi, on peut exclure que l'effet inhibiteur de NaCl sur leur croissance passe par une perturbation de leur alimentation en eau.

Par ailleurs, la toxicité de NaCl est fréquemment associée à des teneurs foliaires élevées en Cl⁻ (Walker *et al.*, 1984) 0,113 à 0,197 méq/g MS selon White et Broadley (2001), mais elle peut aussi résulter de l'accumulation excessive de Na⁺ (> 0,131 méq/g MS selon Maas, 1984) (Fernandez-Ballester *et al.*, 1998). Dans ce travail, les teneurs foliaires en Na⁺ ont dépassé la limite minimale de toxicité à partir du 1^{er} mois de traitement, chez tous les porte-greffes étudiés. Par contre, pour les ions chlorures, ce seuil n'est atteint que chez *PXC*, au 2^e mois et seulement à 70 mM NaCl. Or, depuis longtemps, il est apparu que les espèces d'agrumes les moins tolérantes sont celles qui accumulent le plus de Cl⁻ dans leurs feuilles (Chapman, 1968). Ainsi, *Citrange troyer* par exemple, est reconnu comme étant l'un des génotypes les plus sensibles aux chlorures (Levy, Shalhevet, 1990). L'intensité des dégâts foliaires, l'abscission et la photosynthèse chez ce porte-greffe sont associées aux teneurs accumulées en Cl⁻ (Banuls *et al.*, 1990) et aucune corrélation statistique ni de relation simple ne relie la teneur foliaire du *Citrange troyer* en sodium et les effets négatifs de la salinité (Romero-Aranda

et al., 1998). Concernant le sodium et à l'opposé des chlorures, d'autres études ont montré que Na⁺ est beaucoup plus responsable de la réduction des échanges gazeux et du taux d'assimilation de CO₂ et donc de la croissance (Lloyd *et al.*, 1990). Ainsi, le porte-greffe *Citrus aurantium*, par exemple, est caractérisé par sa sensibilité aux ions Na⁺ (développement de symptômes pathologiques typiques d'une accumulation excessive de sodium) (Zid, Grignon, 1985) et sa croissance est plus affectée par Na⁺ que par Cl⁻ (Fernandez-Ballester *et al.*, 1998). Dans ce sens, nos résultats indiquent que, pour *C.a*, la réduction de la matière sèche est plus en relation avec la teneur en Na⁺ (seuil de toxicité atteint dès le premier mois de stress et corrélation des teneurs en sodium avec la réduction de la masse de matière sèche) qu'avec les ions Cl⁻ (teneurs inférieures à la limite minimale de toxicité et non corrélées à la masse de matière sèche). Pour *PXC*, la forte réduction de MS (considérée comme indice de sensibilité) est en relation étroite avec la teneur foliaire aussi bien en Na⁺ qu'en Cl⁻. Par contre, le porte-greffe *PXM* tolère l'effet du stress salin en alliant probablement l'exclusion sélective de Cl⁻ (absorption relativement plus lente des ions Cl⁻ que chez les autres porte-greffes) et le compartimentage de l'excès de Na⁺. Rappelons à ce sujet que si l'entrée massive de Na⁺ entraîne quelques symptômes de toxicité chez les espèces tolérantes, elle cause par contre une sévère réduction de la croissance ou même la mort des glycophytes sensibles (Maathuis, Amtmann, 1999).

Remerciements

Nous continuons actuellement ce thème de recherche (dans notre laboratoire de culture *in vitro*) grâce au financement du Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique et de la Formation des Cadres du MAROC et ce dans le cadre du projet PROTARS n°P5T1/10.

Bibliographie

- Banuls J., Legaz F., Primo Milla E. (1990). Effects of salinity on uptake and distribution of chloride and sodium in some *Citrus* scion-rootstock combinations. *J. Hort. Sci.* **65**, p. 715–724.
- Blaha G., Stelzl U., Spahn CMT., Agrawal RK., Frank J., Nierhaus HK. (2000). Preparation of functional ribosomal complexes and effect of buffer conditions on tRNA positions observed by cryoelectron microscopy. *Methods Enzymol.* **317**, p. 292–309.
- Chapman HD. (1968). The mineral nutrition of *Citrus*. In Reuther W., Batchelor LD., Weber HJ. (Eds). *The*

- Citrus Industry II*, Berkeley: University of California Press, p. 127–289.
- Cotlove E. (1965). Determination of Cl^- in biological material. In Glick D. (Ed). *Methods of biochemical analysis*. New York: Interscience, p. 277–392.
- Cramer GR, Epstien E., Lauchli A. (1990). Effects of sodium, potassium and calcium on salt-stressed barley. *Physiol. Plant.* **80**, p. 83–88.
- Fernandez-Ballester G., Vicente M., Dionisio R., Antonio C. (1998). Changes in inorganic and organic solutes in *Citrus* growing under saline stresses. *J. Plant Nutr.* **21**, p. 2497–2514.
- Flowers TJ., Yeo AR. (1986). Ion relations of plants under drought and salinity. *Aust. J. Plant Physiol.* **13**, p. 75–91.
- Goell A. (1969). Salinity effects on *Citrus* trees. *Proceedings 1st International Citrus Symposium Riverside 1968*, California USA, University of California, Riverside **3**, p. 1819–1824.
- Gomez KA., Gomez AA. (1984). *Statistical procedures for agricultural research* (2nd ed.). New York: Wiley, p. 272–356.
- Hoagland DR., Arnon DJ. (1950). The water culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Sta. Circ.* n° **347**.
- Hasegawa PM., Bressan RA., Handa S. Handa AK., (1984). Cellular mechanisms of tolerance to water stress. *Hort. Sci.* **19**, p. 371–376.
- Levy Y., Shalhevet J. (1990). Ranking the salt tolerance of citrus rootstocks by juice analysis. *Sci. Hort.* **45**, p. 89–98.
- Levy Y., Lifshitz J., De Malach Y., David Y. (1999). The response of several *Citrus* genotypes to high salinity irrigation water. *Hort. Sci.* **34**, p. 878–881.
- Lloyd J., Kriedemann PE., Aspinall D. (1990). Contrast between *Citrus* species in response to salinisation: an analysis of photosynthesis and water relations for different rootstock-scion combinations. *Physiol. Plant.* **78**, p. 236–246.
- Loussert R. (1985). *Les agrumes*. Techniques agricoles méditerranéennes. Paris : Tech. et Doc. Lavoisier.
- Maas EV. (1993). Salinity and citriculture. *Tree Physiol.* **12**, p. 195–216.
- Maas EV. (1984). Crop tolerance. *Calif. Agr.* **38**, p. 20–21.
- Maathuis FJM., Amtmann A. (1999). K^+ nutrition and Na^+ toxicity: the basis of cellular K/Na ratios. *Ann Bot.* **84**, p. 123–133.
- McCown B., Lloyd G. (1981). Woody plant medium (WPM): a mineral nutrients formulation for microculture of woody plant species. *Hort. Sci.* **16**, p. 453–459.
- Munns R. (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environ.* **16**, p. 15–24.
- Noble CL., Rogers ME. (1992). Arguments for the use of physiological criteria for improving the salt tolerance in crops. *Plant Soil* **146**, p. 99–107.
- Romero-Aranda R., Moya JL., Tadeo FR., Legaz F., Primo-Millo E., Talon M. (1998). Physiological and anatomical disturbances induced by chloride salts in sensitive and tolerant *Citrus*: beneficial and detrimental effects of cations. *Plant Cell Environ.* **21**, p. 1243–1253.
- Ruiz D., Martinez V., Cerda A. (1999). Demarcating specific ion (NaCl , Cl^- , Na^+) and osmotic effects in the response of two *Citrus* rootstocks to salinity. *Sci. Hort.* **80**, p. 213–224.
- Tester M., Davenport R. (2003). Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants. *Ann. Bot.* **91**, p. 503–527.
- Walker RR., Torokfalvy E., Downton JS. (1982). Photosynthetic responses of the *Citrus* varieties Rangpur lime and Etrog citron to salt treatment. *Aust. J. Plant Physiol.* **9**, p. 783–790.
- Walker RR., Sedgley M., Blessing MA., Douglas TJ. (1984). Anatomy, ultrastructure and assimilate concentrations of roots of *Citrus* genotypes differing in ability for salt exclusion. *J. Exp. Bot.* **35**, p. 1481–1494.
- White PR., Broadley MR. (2001). Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review. *Ann. Bot.* **88**, p. 967–988.
- Wilkinson S., Davies WJ. (2002). ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant Cell Environ.* **25**, p. 195–210.
- Zid E., Grignon C. (1985). Sodium-Calcium interactions in leaves of *Citrus aurantium* L. grown in the presence of NaCl . *Physiol. Vég.* **23**, p. 895–903.
- Zid E., Grignon C. (1986). Effets comparés de NaCl , KCl et Na_2SO_4 sur la croissance et la nutrition minérale de jeunes *Citrus aurantium* L. *Oecol. Plant.* **7**, p. 407–416.

(29 réf.)