

Tolérance à la salinité de trois porte-greffes d'agrumes (Citrange Carrizo et deux hybrides)

Mustapha Aït Haddou Mouloud¹
Hamid Benyahia¹
Abdelkader Benazzouz¹
Aouatif Bousrhal²

¹ Unité de recherche Amélioration
et conservation phytogénétiques
Institut de recherche agronomique (Inra)
14, rue Abou Temmam,
BP 257,
Kénitra,
Maroc
<aithaddou_com@yahoo.com>
² Université Ibn Tofail,
Département de biologie végétale,
Kénitra,
Maroc

Résumé

La culture des agrumes au Maroc est en majorité plantée sur le bigaradier, porte-greffe appelé à être abandonné à cause de sa sensibilité à la Tristeza, maladie virale menaçant notre agrumiculture. La salinité du sol et des eaux d'irrigation s'accroît dans les principales régions agrumicoles. La présente étude rentre dans le cadre de sélection d'un porte-greffe de substitution au bigaradier ; son objectif est l'évaluation de la tolérance à la salinité de nouveaux porte-greffes, tolérant la Tristeza, introduits de France. Des plants de citrange Carrizo (CC) et de deux hybrides ICVN 0110211 (H1) et ICVN 0110208 (H2) issus du croisement (*Poncirus trifoliata* Raf. × *Citrus sunki* hort. ex Tanaka) ont été évalués pour leur tolérance à la salinité. Les plants âgés de 18 mois, élevés dans des conteneurs de 8 litres, sont irrigués par une solution nutritive complète additionnée de 0 (témoin), 25, 35, et 70 mM de Na⁺Cl⁻, durant deux mois, sous abri en plastique. L'addition de Na⁺Cl⁻ dans la solution d'irrigation a induit, chez les trois porte-greffes, des symptômes de toxicité spécifique dont la sévérité s'accroît avec la durée et le traitement salin. Le temps d'apparition de ces symptômes au niveau des feuilles a été plus lent chez l'hybride (H1). Ce dernier semble avoir procédé à l'ajustement osmotique par accumulation des sucres solubles au niveau des tissus foliaires (données non mentionnées). L'analyse foliaire a révélé que l'accumulation aussi bien du chlore (Cl⁻) que du sodium (Na⁺) dans les tissus foliaires varie en fonction du porte-greffe et du traitement salin. La teneur des feuilles de citrange Carrizo en chlore est significativement plus élevée que dans celles des deux autres hybrides (H1) et (H2). En revanche, ce même porte-greffe a accumulé moins de sodium comparativement à ces deux derniers. Les feuilles de l'hybride H1 ont une concentration plus élevée en sodium, celle de l'hybride H2 se situant juste en dessous.

Mots clés : Productions végétales ; Physiologie.

Summary

Tolerance of three citrus rootstocks to salinity

Citrus in Morocco are mainly planted on the sour orange rootstocks, but the latter is bound to be abandoned due to its susceptibility to the Tristeza disease. Also the salinity becomes a serious problem in citrus growing areas of Morocco. Choosing the right rootstock is the most practical means to overcome the problem. Our purpose was to evaluate three Tristeza-tolerant rootstocks, introduced from San Giuliano Agronomic Research Station, Corsica France, for their behaviour to salinity. Seedlings of Carrizo citrange rootstocks and of two hybrids ICVN 0110211 (H1) and ICVN 0110208 (H2) resulting from the cross (*Poncirus trifoliata* Raf. × *Citrus sunki* hort. ex Tanaka) were tested for their tolerance to salinity. This study was carried out in greenhouse conditions at the INRA Experimental station of EL Menzeh (Morocco). Eighteen-month-old plants were grown in 8-litre containers of sand, peat moss, manure heap (1/3.1/3.1/3 v/v/v), irrigated four times per week and fertilised with a complete nutritional solution. Na⁺Cl⁻ at 0 (control), 25, 35, and 70 mM was added to the watering solution for 2 additional months. Untreated plants were watered using the nutritional solution devoid of salt. All three rootstocks showed a specific toxicity when irrigated with the Na⁺Cl⁻ solution, the severity of which increased with time and salt concentration. Rootstock leaf analysis revealed that accumulation of chloride as well as of sodium varied with the rootstocks. Carrizo citrange leaves had higher chloride levels than the leaves of the other two rootstocks, but had accumulated a

Tirés à part : M. Aït Haddou Mouloud

significantly lesser amount of sodium. Rootstocks ICVN 011211 showed the lower leaf chloride concentration and the lowest leaf-specific toxicity, probably as a result of osmotic adjustment by accumulation of an important quantity of soluble sugars in the foliar tissues (data no showed).

Key words: Vegetal Productions; Physiology.

Matériel et méthode

Ce travail a été réalisé sous abri au domaine expérimental d'EL Menzeh, au nord de Kenitra, au Maroc. Les porte-greffes utilisés sont issus de semences en provenance de la station de recherche agronomique de San Giuliano (Corse, France) : il s'agit du citrange Carrizo (CC) et de deux hybrides (ICVN0110211 (H1) et ICVN0110208 (H2)) issus d'un croisement entre *Citrus sunki* hort. ex Tanaka × *Poncirus trifoliata* Raf. On a utilisé pour chaque porte-greffe 72 plants homogènes âgés d'un an et demi que l'on a transféré dans des pots de 8 litres contenant un substrat stérilisé pour éliminer les germes fongiques et constitué de 1/3 sable, 1/3 tourbe, 1/3 fumier. Les porte-greffes sont placés sous un tunnel en plastique et sont irrigués quatre fois par semaine par la solution de Hoagland et Arnon [10] à moitié concentrée, sans addition de Na^+Cl^- , durant 1 mois avant l'application du stress salin [11]. Quatre concentrations de Na^+Cl^- ont été utilisées : 0 ; 25 ; 35 et 70 mM. Le sel est ajouté à la solution de Hoagland et Arnon [10] à moitié concentrée. Pour définir la dose de solution pour l'irrigation de chaque plant, nous avons déterminé l'évapotranspiration (ETP) et, afin d'éviter un choc osmotique, nous avons effectué une irrigation d'adaptation durant une semaine, au cours de laquelle

les concentrations de Na^+Cl^- dans la solution d'irrigation [11, 12] ont été augmentées progressivement. Pour éviter l'accumulation de sel dans le substrat, un lessivage a été pratiqué avec de l'eau tous les quinze jours. Le dispositif expérimental adopté est le *split-plot* à 6 répétitions, avec le facteur traitement dans les grandes parcelles et le facteur porte-greffe dans les petites parcelles. L'évaluation de la tolérance a été établie sur la base des symptômes foliaires et l'accumulation des ions sodium et chlore dans les tissus foliaires des porte-greffes après 30 et 60 jours de traitement salin. La date d'apparition des symptômes de chlorose et leur intensité ont été enregistrées. La sévérité des symptômes visuels a été évaluée selon l'échelle de Goel [13] (tableau 1).

Pour le dosage du chlore et du sodium, trois plants ont été prélevés le long de l'essai à l'intervalle d'un mois pour chaque porte-greffe et chaque traitement.

Pour chaque plant, les racines sont séparées des parties aériennes et après rinçage à l'eau distillée et essuyage, on détermine leur matière sèche par séchage à l'étuve à 70 °C pendant 48 h. De la matière foliaire sèche (0,25 g) est prélevée, broyée et incinérée à 450 °C pendant 4 h, puis refroidie à une température ambiante. Le dosage du sodium est fait selon la méthode de l'absorption atomique et celui du chlore par volumétrie [14].

Tableau 1. Échelle d'évaluation de la sévérité de la toxicité de la salinité.

Table 1. Rating of the toxicity of salinity in three citrus rootstocks.

Note	Symptômes observés sur les feuilles
0	– Toutes les feuilles sont vertes et saines
1	– Couleur vert clair des feuilles
2	– Début de chlorose, jaunissement des bordures et de la partie terminale des feuilles
3	– Chlorose prononcée
4	– Feuilles complètement chlorosées
5	– Feuilles chlorosées et nécrosées

La salinité des sols et des eaux d'irrigation pose un problème sérieux dans les régions arides et semi-arides du Maroc où les agrumes sont très cultivés, particulièrement en cas de sécheresse ou d'utilisation d'eau de mauvaise qualité. Plus de 38 % des sols dans les principaux périmètres irrigués sont affectés par la salinité [1]. Dans la majorité des régions agrumicoles, les vergers sont irrigués par des eaux à fort risque salin [2]. Or, les agrumes sont très sensibles à la salinité et les pertes en rendement liées à l'irrigation sont estimées à 13 % [3-5]. Pour éviter les effets de cette contrainte abiotique sur la culture des agrumes, l'utilisation de porte-greffes tolérants représente le moyen le plus pratique. C'est celui que les agrumiculteurs préconisent, étant donné la grande sensibilité des variétés greffées [3, 4].

Au Maroc, le bigaradier (*Citrus aurantium* L.) est le porte-greffe le plus utilisé en raison de son adaptation à la majorité des sols et des conditions climatiques et de sa résistance acceptable vis-à-vis des *Phytophthora* spp [2, 6, 7]. Cependant, les menaces de la Tristeza (maladie virale présente en Espagne) a remis en cause l'utilisation de ce porte-greffe, car la plupart des associations variété/bigaradier sont sensibles à cette maladie. En outre, la résistance du bigaradier aux attaques de *Phytophthora* spp. est affectée par la salinité du sol ou de l'eau d'irrigation [8]. Dès lors, la recherche d'un porte-greffe autre que le bigaradier s'impose. Parmi les caractéristiques visées dans les porte-greffes de remplacement, figurent la résistance à la Tristeza, la tolérance aux *Phytophthora* spp., ainsi qu'à la salinité et au calcaire. Dans cette optique, le programme national de recherche sur les agrumes a introduit, à partir de la France, de nouveaux porte-greffes réputés résistants à la Tristeza, mais leur comportement vis-à-vis de la salinité reste inconnu. Notre étude vise à évaluer la tolérance de trois porte-greffes vis-à-vis du stress salin, plus particulièrement la tolérance aux ions chlore et sodium [5, 9].

Résultats

L'apparition des symptômes de toxicité sur les feuilles a eu lieu 3, 4 et 5 semaines après le début de traitement pour les trois doses 70, 35 et 25 mM de Na^+Cl^- respectivement.

L'évolution des symptômes (figure 1) est similaire chez les trois porte-greffes : d'abord, des chloroses avec jaunissement des bordures et de la partie terminale des feuilles, évoluant vers le jaune-jaune bronzé. Chez quelques plants (notamment ceux soumis à une concentration de 70 mM de Na^+Cl^-), une chute des feuilles est observée (CC et H2). Le pourcentage des plants montrant des symptômes foliaires varie avec le traitement et le porte-greffe. Il est plus élevé pour la dose de 70 mM. Il atteint 100 % à la dose 25 mM après la cinquième semaine de traitement pour le CC, à la dose de 35 mM après la sixième semaine pour H2 et après la septième semaine à la dose de 70 mM pour le porte-greffe H1.

Le sodium (Na^+)

L'analyse statistique effectuée après 1 mois de traitement a révélé une différence significative entre les traitements, mais non entre les porte-greffes. À la dose de 70 mM de Na^+Cl^- , on a une élévation importante de la teneur du sodium (0,56 %) dans les tissus foliaires des trois porte-greffes par rapport aux plants témoins. Après 30 jours de traitement, le pourcentage du sodium pour l'ensemble des porte-greffes atteint 0,19 % sans sel, 0,22 % pour 0,25 mM et 0,56 % pour 70 mM, ce dernier étant significativement plus élevé que les trois autres. Par ailleurs, après 2 mois de traitement, l'analyse de la variance a révélé des effets significatifs des facteurs traitement-porte-greffe ainsi qu'une interaction (porte-greffe \times traitement). Pour le porte-greffe H1, la dose 70 mM a induit une forte accumulation du sodium comparé aux plants témoins. Chez les porte-greffes CC et H2, elle est respectivement de 0,7 et 1,4 % tandis que pour le porte-greffe H1, elle atteint 2,5 %. La comparaison des porte-greffes vis-à-vis des concentrations en sel (figure 2) montre que les porte-greffes CC et H2 ont accumulé moins de sodium que le porte-greffe H1.

Le Chlore (Cl^-)

Pour ce paramètre, l'analyse statistique a révélé des effets significatifs des facteurs

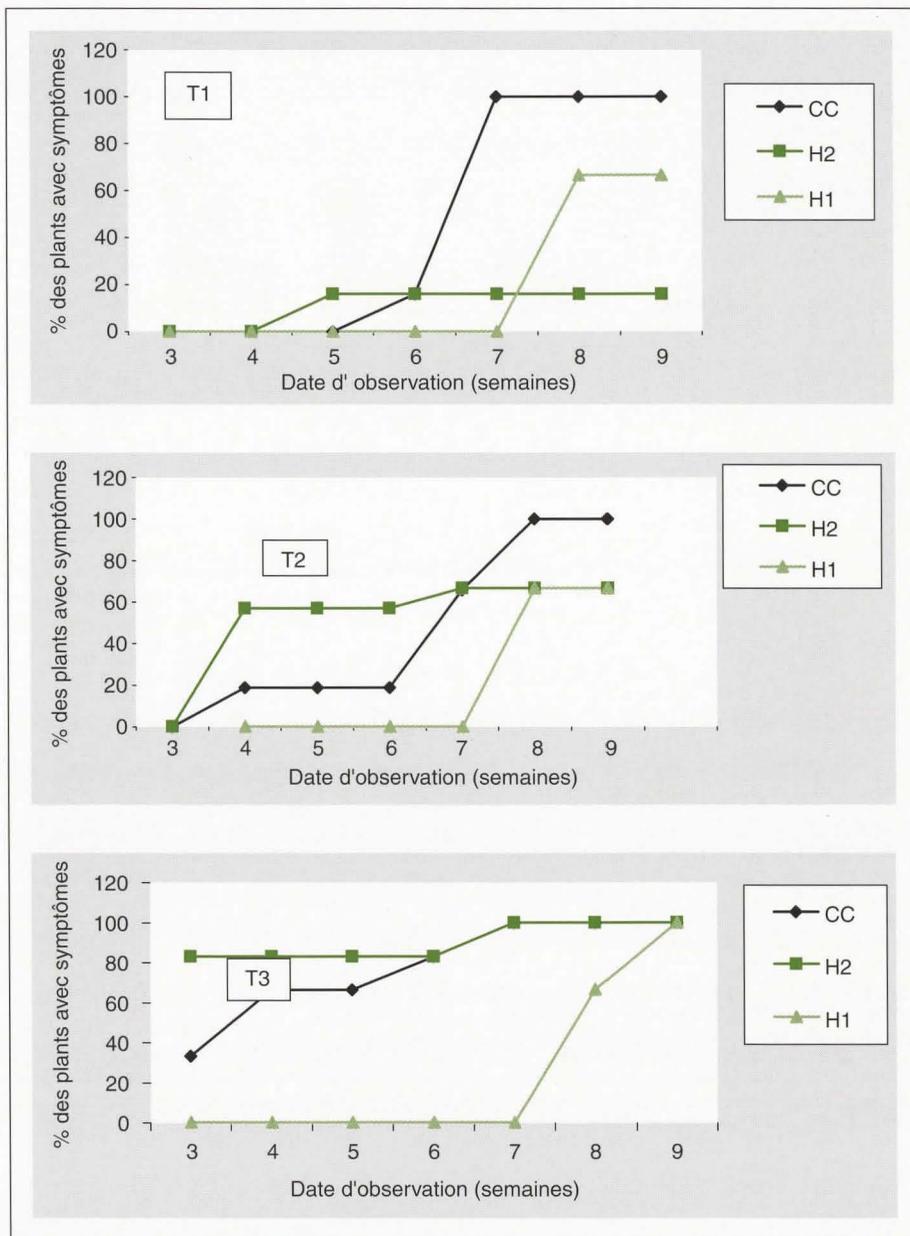


Figure 1. Effet de la salinité sur l'évolution des symptômes foliaires chez trois porte-greffes d'agrumes : CC : citrange Carrizo ; H1 : hybride B230591 ; H2 : hybride B230588. Concentrations de Na^+Cl^- utilisées (en mM) : T1 = 25 ; T2 = 35 ; T3 = 70.

Figure 1. Effect of salinity on the evolution of foliar symptoms in three citrus rootstocks.

porte-greffe et traitement alors que l'interaction (traitement \times porte-greffe) était non significative. La comparaison des moyennes de la teneur foliaire en Cl^- chez les trois porte-greffes montre deux groupes significativement distincts :

- un premier groupe est formé par le porte-greffe CC avec accumulation du chlore plus élevée (0,28 % de matière sèche, MS) ;
- un second groupe est formé par les hybrides H1 et H2 présentant une faible

accumulation qui est, respectivement, de 0,18 et 0,19 % MS.

Discussion

La sévérité des symptômes est liée à la concentration en Na^+Cl^- et à la durée du traitement salin. Elle est plus élevée à 70 mM de Na^+Cl^- chez les porte-greffes

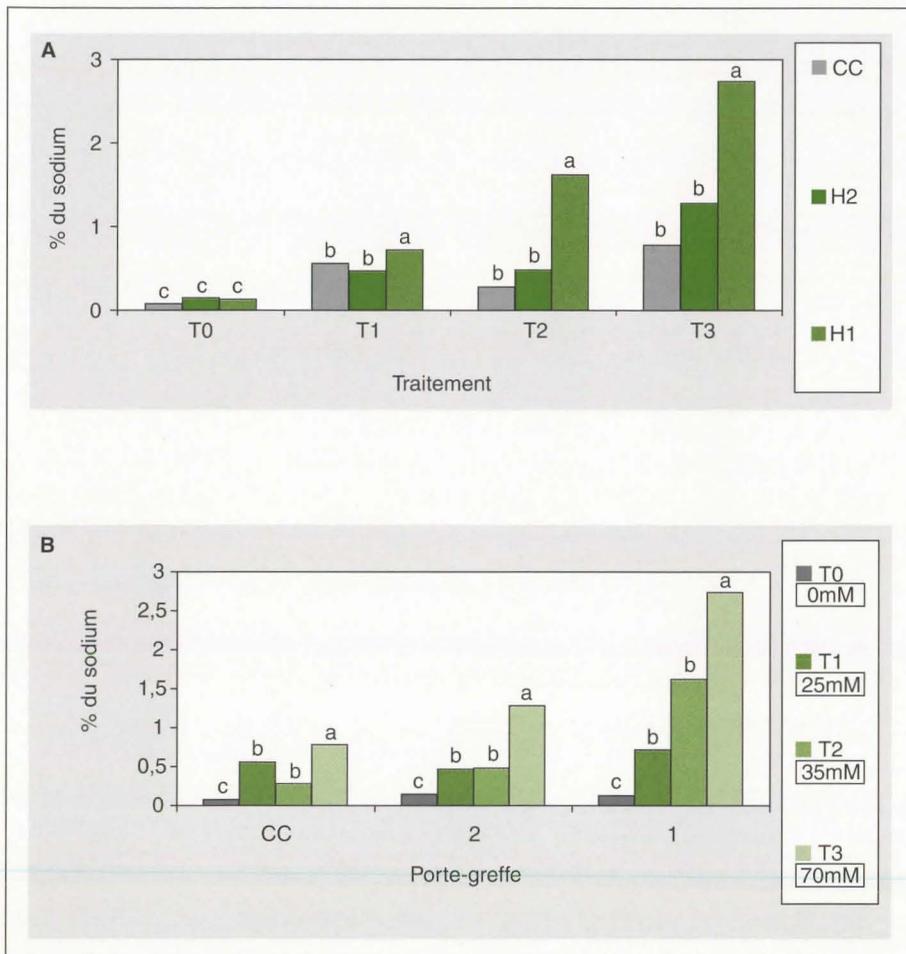


Figure 2. Teneur du sodium dans les tissus foliaires de porte-greffes d'agrumes. A : sous différents niveaux de salinité (Mm NaCl) ; B : pour différents porte-greffes.

CC : citrange Carrizo ; H1 : hybride IVCN0110211 ; H2 : hybride IVCN0110208.
T0, T1, T2, T3 : concentrations de Na⁺Cl⁻ utilisées.

Figure 2. Concentration of sodium in the foliar tissues of three citrus rootstocks. A: at different salinity levels (Mm Na⁺Cl⁻); B: in three different rootstocks.

CC et H2 que chez le porte-greffe H1. Ces symptômes peuvent être expliqués par l'accumulation d'ions toxiques ou par une carence induite par la salinité [3, 15] ou ils peuvent résulter d'une augmentation du potentiel osmotique dans le substrat. Dans ce cas, la turgescence cellulaire repose sur l'accumulation d'ions dans la vacuole, ce qui altère les organites cellulaires avec des brûlures foliaires [3, 16]. La concentration de Na⁺ serait toujours inférieure à celle de Cl⁻ au niveau des feuilles chez le genre Citrus [16]. En cas d'excès de Na⁺, ce dernier remplace le Ca²⁺ au niveau de l'apoplasme des feuilles, avec des nécroses marginales caractéristiques d'une toxicité du sodium [17]. Il existerait une corrélation très significative entre les teneurs foliaires en Cl⁻ et en Na⁺, et

l'évolution des niveaux de chlorose sur les feuilles des Citrus [18]. L'arrosage avec une eau chargée en Na⁺Cl⁻ accumule le sodium dans les tissus foliaires des porte-greffes en fonction du degré de salinité et de la durée de traitement [11, 12, 19, 20]. Par ailleurs, l'ion chlore s'accumule lors du traitement salin. Cette accumulation est très élevée chez le porte-greffe CC, et faible chez les porte-greffes H1 et H2 alors que celle du sodium est importante chez le porte-greffe H1 [21]. Les porte-greffes des agrumes diffèrent dans leur aptitude à exclure le Cl⁻ et le Na⁺ [12, 23, 24]. La concentration foliaire en Cl⁻ reste un véritable critère pour l'évaluation des dommages de la salinité, et peut être utilisée pour la classification des porte-greffes des agrumes quant à leur tolé-

rance au Na⁺Cl⁻ [21, 22]. Dans ce sens, le porte-greffe H1 manifeste une tolérance vis-à-vis de la toxicité spécifique (traduite par les nécroses foliaires et une faible accumulation du chlore). En revanche, le porte-greffe H2, bien qu'ayant un comportement similaire au porte-greffe H1 en termes d'accumulation de chlore, s'est montré très sensible à la toxicité spécifique de la salinité. Cela pourrait s'expliquer par l'accumulation de solutés organiques chez le H1, en l'occurrence les sucres solubles [24] ■

Références

1. Ftouhi A. *Les sols salés dans les ORMVA*. Mémoire de 2^e cycle, ENA de Meknes, 1981.
2. Benyahia H. *Effet de la salinité sur le développement des maladies à Phytophthora des agrumes au Maroc*. Thèse de 3^e cycle, université Cadi Ayyad, faculté des sciences Semlalia, Marrakech, 1998, 170 p.
3. Maas EV. Salinity and citriculture. *Tree Physiol* 1993 ; 12 : 195-216.
4. Albrigo LG, Davies FS. *Citrus*. New York : CAB International, 1994 ; 272 p.
5. Ilhami TA, Moore A, Charles L, Guy BC. Effect of increasing NaCl concentration on stem elongation, dry mass production, and macro- and micro-nutrient accumulation in *Poncirus trifoliata*. *Aust J Plant Physiol* 2000 ; 27 : 35-42.
6. Vanderweyen A. La gommose à *Phytophthora* des agrumes au Maroc. *Al Awamia* 1974 ; 51 : 83-127.
7. Nadori EB, Ouammou M, Kayaf M. Comportement de trois clones de clémentinier sur différents porte-greffes. *Al Awamia* 1988 ; 64 : 44-54.
8. El Gulli M, Benyahia H, Jrfi A, Besri M. Effet de la salinité de l'eau d'irrigation sur la sévérité de la gommose du tronc d'agrumes due à *Phytophthora citrophthora*. *Fruit* 2000 ; 55 : 181-6.
9. Fernandez-Ballester G, Vicente Martinez, Dionisio Ruiz, Antonio Cerda. Change in inorganic solutes in Citrus growing under saline stresses. *J Plant Nutr* 1998 ; 21 : 2497-514.
10. Hoogland DR, Arnon DI. The water culture method for growing plants without soil. *Calif Agric Exp Stn Circ* 1954 ; 347 : 32 p.
11. Zekri M. Salinity and calcium effects on emergence, growth and mineral composition of seedling of eight citrus rootstocks. *Ann Botany* 1993 ; 72 : 45-7.
12. Walker RR, Blackmore DH, Sunquing D. Carbon dioxide assimilation and foliar ion concentration in leaves of lemon (*Citrus limon* L.) trees irrigated with NaCl or Na₂SO₄. *Aust J Plant Physiol* 1993 ; 20 : 173-85.
13. Goel A. *Salinity effects on citrus trees*. Proceedings First international citrus symposium, 1969 : 1819-24.

14. Homer D, Parker F. *Methods of analysis for soil, plant, and waters*. S.I. : University of California, Division of agricultural sciences, 1961 ; 309 p.
15. El Fadl A. *Influence du régime d'irrigation sur le contrôle de la salinité dans le cas du clémentinier dans le Haouz de Marrakech. Fascicule II. Réponse de la plante au stress salin. Cas particulier des agrumes*. Mémoire IAV Hassan II, 1981, 21 p.
16. Pessarakli M. Formation of saline and sodic soils and their reclamation. *J Environ Sci Health* 1991 ; A26 : 1303-20.
17. Gramer GR, Lauchli A, Polito VS. Displacement of Ca^+ from the plasmalemma of root cells plants. *Physiol* 1985 ; 79 : 207-11.
18. Quariouh N. *Réponse du bigaradier et du citrange Troyer non greffés et greffés par la Valencia Late à des doses croissantes de chlorure de sodium*. Mémoire IAV Hassan II, 1988.
19. Bannuls J, Primo-Millo E. Effect of chloride and sodium on gas exchange parameters and water relation of Citrus plants. *Physiologia Plantarum* 1992 ; 86 : 115-23.
20. Story R. Salt tolerance, ion relations and the effect of root medium on the response of citrus to salinity. *Aust J Plant Physiol* 1995 ; 22 : 101-14.
21. Zekri M, Lawrance R, Parson R. Salinity tolerance of citrus rootstocks : Effect on root and leaf mineral concentrations. *Plant and Soil* 1992 ; 147 : 171-81.
22. Cooper WC. Toxicity and accumulation of salts in Citrus trees on various rootstocks in Texas. *Proceeding of the Florida State Horticultural Society* 1961 ; 74 : 95-104.
23. Liloyd J, Syversten JP, Kridemann PE. Salinity effects on leaf water relations and gas exchange of valencia orange, *Citrus sinensis* (L) osbeck, on rootstocks with different salt exclusion characteristics. *Aust J Plant Physiol* 1987 ; 14 : 605-17.
24. Ait Haddou MM, Bouserhal A, Benyahia H, Benazzouz A. Effet du stress salin sur l'accumulation de la proline et des sucres solubles dans les feuilles des trois porte-greffes d'agrumes au Maroc. *Fruits* 2002 ; 57 : 335-40.