

## Effect of different levels of water salinity on the morpho-physiological behavior of Cassar clementine grafted on three rootstocks.

### Etude de l'effet des différents traitements à l'eau saline sur le comportement morpho-physiologique de la clémentine Cassar greffé sur différents porte-greffes

M.K. AOUNALLAH\*<sup>1</sup>, S.B.M. HAMMAMI<sup>1</sup>, A. KHARRAT<sup>1</sup>, H. AMEUR<sup>1</sup>, J. BOUSSAA<sup>1</sup>, T. BETTAIEB<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Agronomic Institute of Tunisia (INAT), University of Carthage, Tunis, Tunisia

\*Corresponding author: aounallahkarim@yahoo.fr

**Abstract** – The aim of this study was to evaluate the influence of the salinity of water irrigation on the vegetative growth of the Clementine Cassar grafted on different rootstocks. The experiment was conducted, in off-ground cultivation system, in 60-liter pots with a substrate representative of the most important citrus growing region of Tunisia and placed under a plastic greenhouse. The results obtained showed that irrigation with salty water decreases on 20% the number and the length of shoots and on 40% the number of leaves per plant in the combination Cassar/C35 in comparison with the combination Cassar/Bitter orange. In addition, the salty water increases the proline content to attain order 900 µg/gMF in comparison with the use of fresh water, for which proline levels has not exceed 100 µg/GMF.

**Keywords:** citrus, salinity, rootstock, growth.

**Résumé** – Le présent travail a pour but l'étude de l'effet de l'irrigation saline sur la croissance végétative de la clémentine Cassar greffée sur différents porte-greffes. L'essai a été mené en système hors sol dans des pots de 60 litres avec un substrat représentatif de la région agrumicole et placés dans une serre plastique au sein du Centre Technique des Agrumes.

Les résultats obtenus ont montré que l'irrigation avec l'eau saumâtre (T3) provoque une diminution chez Cassar/C35 du nombre et de la longueur des pousses végétatives de l'ordre de 20 % et du nombre de feuilles par plant de l'ordre de 40% par rapport la combinaison assar /Bigaradier. De même, le dosage de la proline a montré que le traitement CT3 montre la teneur la plus élevée de l'ordre de 900 µg/gMF par contre les traitements avec l'eau du canal les teneurs en proline ne dépassent pas les 100 µg/gMF. De ce fait, le bigaradier apparaît le porte-greffe le plus tolérant vis-à-vis à la salinité et le citrange C35 semble le porte-greffe le plus sensible.

**Mots clés :** citrus, salinité, porte-greffe, croissance végétative.

#### 1. Introduction

L'agrumiculture occupe une place importante dans le développement agricole en Tunisie. En dépit de son essor, l'agrumiculture est confrontée à une multitude de contraintes qu'elles soient de type iotiques principalement le virus de la tristezza (CTV) mais aussi abiotiques (manque d'eau, salinité, alcalinité). Les agrumes (*Citrus* sp.) sont classés parmi les espèces arboricoles les plus sensibles à la salinisation des eaux d'irrigation. En effet, la présence d'une concentration de NaCl de l'ordre de 25 mM/litre dans les eaux d'irrigation est défavorable à la croissance et développement des agrumes provoquant une réduction de la croissance végétative avec une déshydratation des feuilles accompagnée d'une défoliation partielle (Mademba-Sy, 2004). Toutefois, Les plantes cultivées dans des conditions de stress salin ont une croissance limitée et restent rabougries (Rashad *et al.*, 2011). La réduction de la croissance dépend essentiellement de la durée du traitement et du niveau de salinité des eaux (Salah, 2005). La réduction de la croissance est représentée par : une diminution du diamètre des racines et des tiges,



réduction de la hauteur de la plante et longueur des racines (plante plus chétive), raccourcissement des entre-nœuds (plante naine), réduction du nombre de feuilles et de la surface foliaire (Salah, 2005; Murkute et al., 2005). La réduction de la croissance est dépendante aussi du greffon alors que la défoliation dépend du porte-greffe (Murkute et al., 2005). La teneur en sel élevée dans les tissus influence directement les enzymes photosynthétiques et par voie de conséquence les réactions d'échange de lumière et de gaz (El Hendawy et al., 2005). Or, la réduction de la photosynthèse à long terme entraîne l'inhibition de la formation et de l'expansion de la feuille ainsi que l'abscission précoce de cette dernière (Kozłowski, 1997). La fluorescence chlorophyllienne est utilisée comme outil de diagnostic de l'état fonctionnel du photosystème II en conditions de stress salin (Bouaouina et al., 2000).

Le bigaradier, vu son adaptation à des nombreux types de sols, sa bonne productivité et la qualité des fruits, est considéré le porte-greffe de base des orangeraias Tunisiennes. Néanmoins sa sensibilité à la tristezza maladie virale considérée comme étant la maladie la plus destructrice pour les agrumes, nous oblige à chercher des nouveaux porte-greffes résistants au virus de la Tristezza mais aussi ayant des caractéristiques similaires au bigaradier.

Le présent travail vise l'étude de la tolérance à la salinité de la clémentine Cassar greffée sur différents porte-greffes à savoir Bigaradier, Citrange C35 et Volkamariana.

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Matériel

Le présent travail a été effectué au cours de l'année 2015 au sein du Centre Technique des Agrumes (CTA) situé dans la région d'El Gobba Beni Khalled au Cap Bon Tunisien. L'objectif de cette étude est d'identifier l'effet de l'irrigation saline sur la croissance végétative de la clémentine Cassar (*Citrus reticulata*) greffés sur différentes portes-greffe à savoir : le bigaradier (*Citrus aurantium*), le Citrus volkamariana et le Citrange C35.

L'essai a concerné des plants âgés d'un an plantés individuellement dans des pots en plastique (volume 60 L) avec un substrat sableux ayant une texture de l'ordre de : 80 % sable, 5 % limon et 15 % argile. Les plants sont placés dans une serre en plastique, équipée avec un cooling système et d'une ombrière afin de limiter les températures très élevées.

### 2.2. Méthodologie

Le Centre Technique des Agrumes dispose de deux sources d'eau : Le canal Medjerda Cap Bon avec une salinité de 1,4 g/L et un puits de surface avec une salinité de 3,22 g/L. L'essai réalisé a englobé 3 traitements salins à savoir : (T1) irrigation 100 % eau du canal (traitement témoin) ; (T2) irrigation avec un mélange égal entre l'eau du canal et l'eau du puits. On a une salinité de 2,5 g/L. ; (T3) irrigation 100% eau du puits. La dose d'irrigation est de l'ordre de 40 Litres /Plants/ Semaine

Afin d'étudier la tolérance au stress salin de différentes combinaison variété Cassar avec différents porte-greffes, on a choisi pour cet essai trois PG à savoir : B (bigaradier), C (Citrange C35) et V (Volkamariana). Pour évaluer l'effet des différents traitements sur la croissance végétative de la clémentine, on a étudié les paramètres morphologiques : hauteur des plants, nombre et longueur des pousses, le nombre des feuilles et entre-nœuds ; et des paramètres physiologiques et métaboliques : la teneur en eau des feuilles et dosage de la proline. Les différents paramètres étudiés sont évalués après 5 mois des traitements d'irrigation (fin septembre).

### 2.3. Dispositif expérimental et analyses statistiques

Le dispositif expérimental utilisé est un dispositif complètement aléatoire comportant trois répétitions, trois traitements salins, trois porte-greffes avec une unité expérimentale de base composée de deux plants. L'analyse statistique des résultats obtenus a été effectuée en utilisant la procédure ANOVA du logiciel « SPSS for Windows » (version 20.0).

## 3. Résultats et Discussion

### 3.1. Étude des paramètres de la croissance

Les résultats obtenus ont montré que l'irrigation avec l'eau saline affecte la croissance en hauteur de la clémentine (Figure 1). En effet, on observe que le bigaradier confère à la variété la vigueur la plus importante en termes d'hauteur des plants. Par contre, le traitement combiné irrigation à 3,22 g/L et

utilisation du porte-greffe Volkameriana engendre une croissance en hauteur la plus faible qui est de l'ordre de 49,56cm.

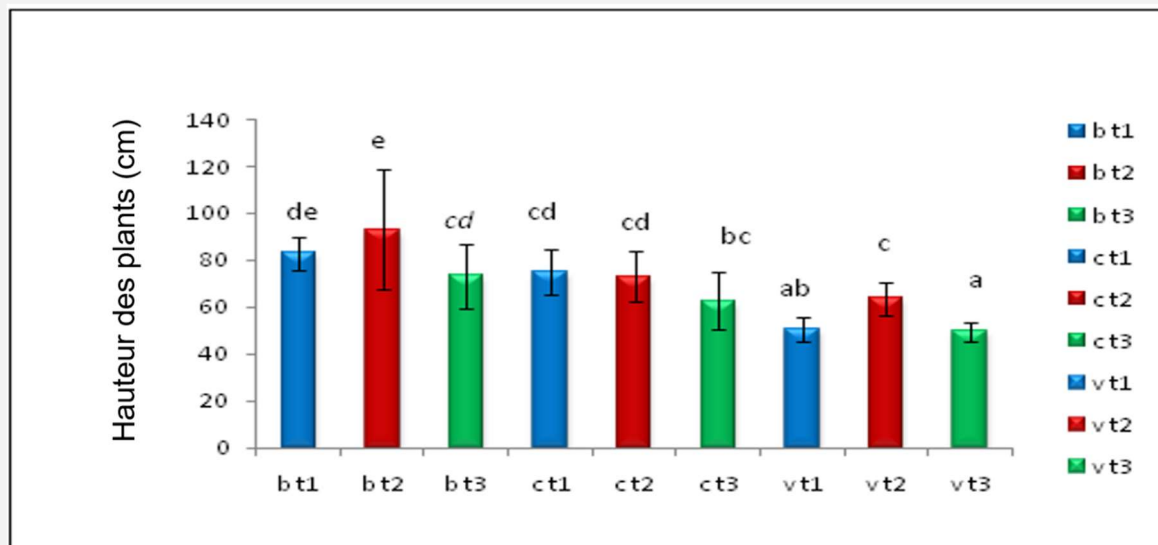


Figure 1. Effet des différents traitements (T1, T2 et T3) sur la hauteur des plants de clémentine.

De même, les résultats obtenus ont montré que le nombre des pousses par plants varie selon le traitement salin appliqué et le porte greffe utilisé (Figure 2). En effet, on observe une réduction importante du nombre de pousses chez les plants greffés sur le *Citrus volkameriana* combiné avec les traitements T2 et T3 de l'ordre de 30 % par rapport au témoin (clémentine /bigaradier combiné à T1).

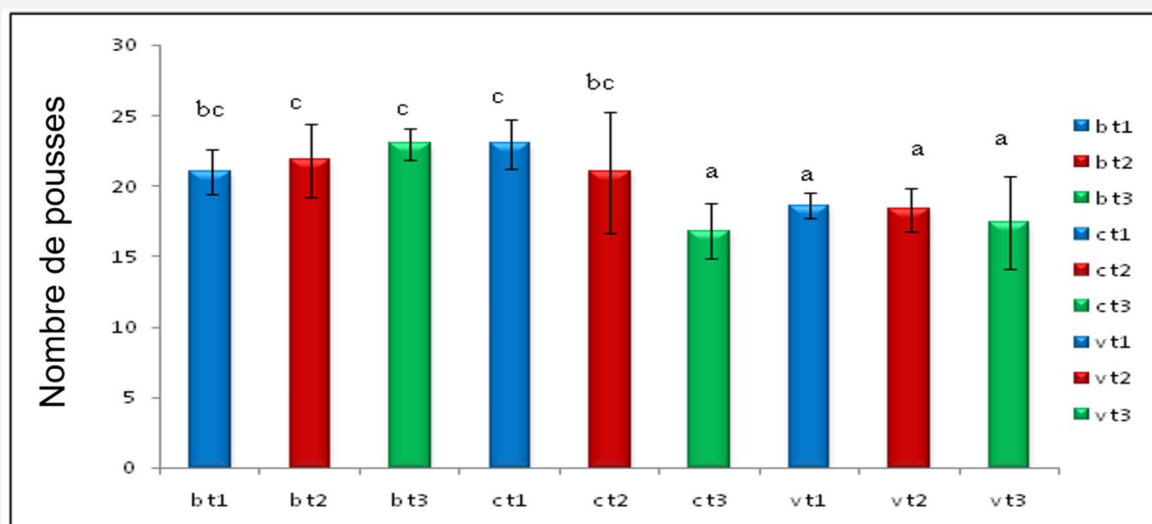
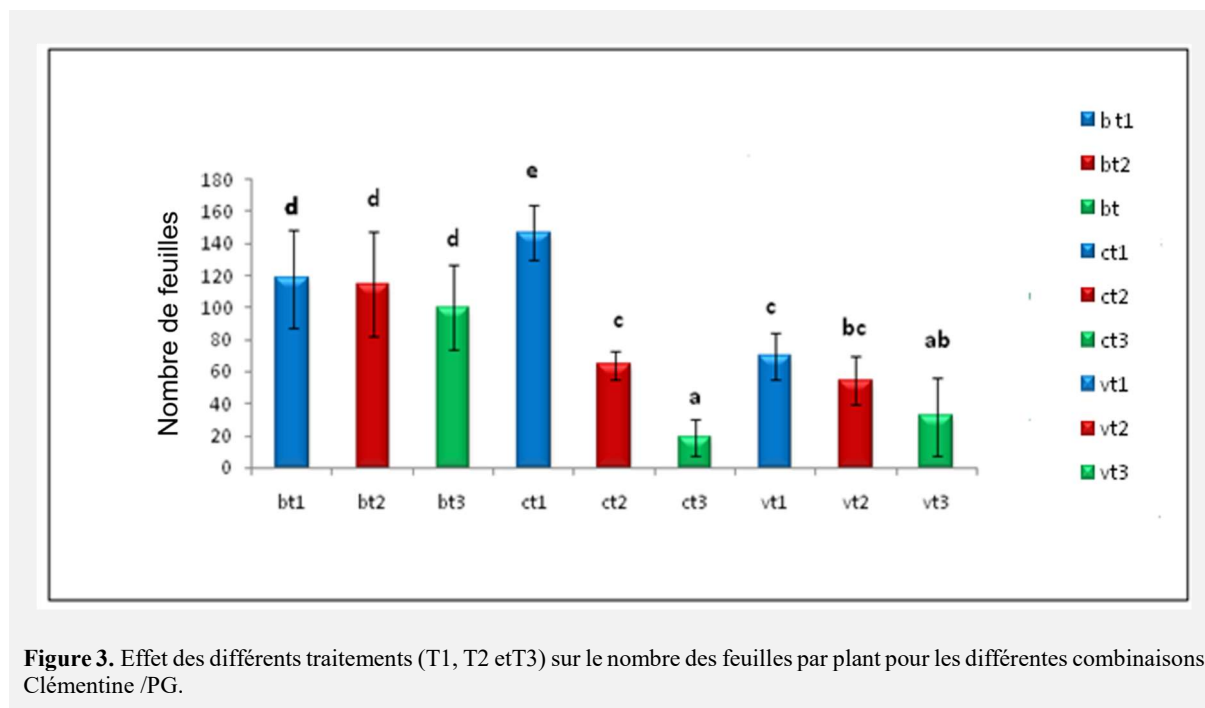


Figure 2. Effet des différents traitements (T1, T2 et T3) sur le nombre des pousses par plants pour les différentes combinaisons Clémentine /PG.

D'autre part, les résultats obtenus ont montré que la salinité de l'eau d'irrigation et le porte-greffe utilisé affectent significativement le nombre des feuilles par plants. En effet, on observe une diminution importante du nombre de feuilles au cours de l'essai avec l'application des traitements salins T2 et T3 pour la variété greffée sur le Citrange « C35 ». De même on remarque une diminution qui est moins importante chez les plants greffés sur le *Citrus volkameriana* entre T1 et T3 (Figure 3). Cependant chez

la clémentine greffée sur bigaradier le nombre de feuille par plant ne montre pas de différence significative quel que soit le traitement d'irrigation appliqué.



**Figure 3.** Effet des différents traitements (T1, T2 et T3) sur le nombre des feuilles par plant pour les différentes combinaisons Clémentine /PG.

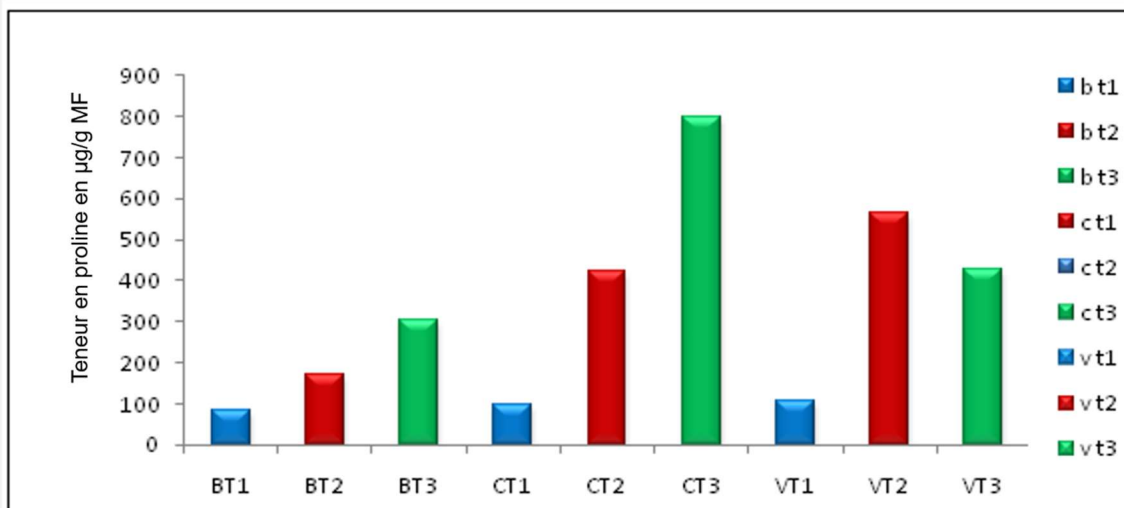
### 3.2. Études des paramètres physiologiques et métaboliques

Les résultats obtenus ont montré que l'irrigation avec l'eau saline réduit significativement la teneur en eau (TE) des feuilles (Tableau 1). En effet, les teneurs en eau les plus élevées sont notées chez les plants greffés sur le Bigaradier. Par opposition, les TE les plus faibles sont enregistrées chez les plants greffés sur le citrange C35 avec le traitement T3.

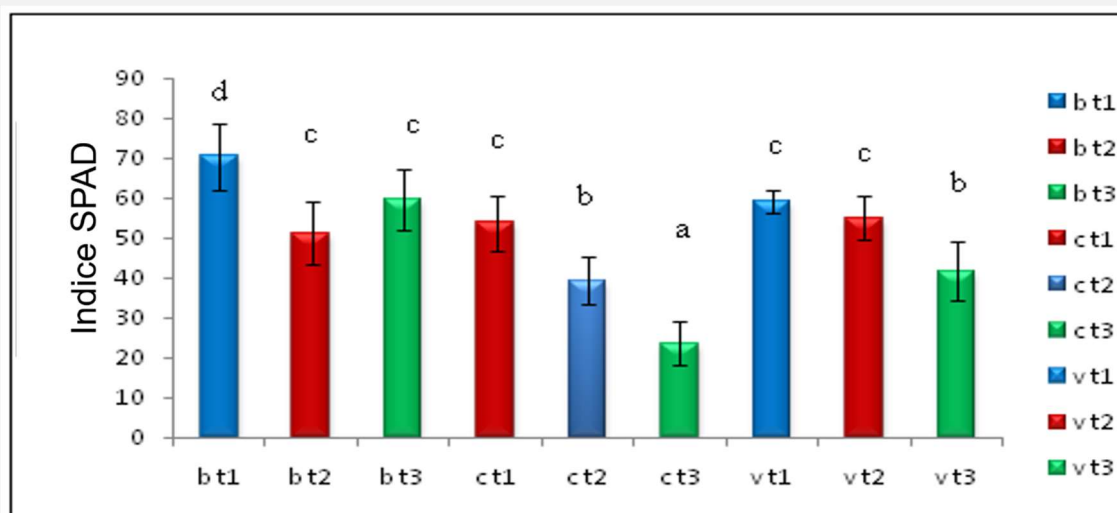
**Tableau 1.** Effet de l'irrigation saline sur la teneur en eau des feuilles (%) chez la Clémentine greffée sur différents porte-greffes (mesure fin septembre).

Eau d'irrigation	C/Bigaradier	C/Volka meriana	C/citrange C35
T1	68 a	65 a	61 a
T2	66 a	64 a	57 ab
T3	53 b	52 b	49 bc

Le dosage de la proline qui est un indicateur métabolique de contraintes abiotiques montre que cette dernière est variable en fonction des traitements (Figure 4). En effet, on enregistre une différence significative entre les traitements T1 et T3. De même, la teneur de proline la plus élevée est enregistré chez les plants greffés sur le Citrange « C35 » et irrigué par le traitement T3 qui est de l'ordre de 798,32 µg/gMF et la valeur la plus faible est observée chez les plants greffés sur le Bigaradier et irrigué par le traitement T1 avec une teneur de l'ordre de 84,22 µg/gMF.



**Figure 4.** Effet de différents traitements (T1, T2 et T3) sur la teneur en proline des plants pour les différentes combinaisons Clémentine /PG (prélèvement fin septembre).



**Figure 5.** Effet de différents traitements (T1, T2 et T3) sur l'indice SPAD des plants pour les différentes combinaisons Clémentine /PG (prélèvement fin septembre).

D'autre part, on note que l'indice chlorophyllien SPAD est variable en fonction des différents traitements (Figure 5). En effet, on observe une diminution hautement significative de l'ordre de 57% entre le traitement CT1 et le traitement CT3. Par contre, les plants de clémentine Cassar greffée sur Volkameriana ou sur Bigaradier présentent une variation moins importante entre les traitements T1 et T3.

Les principaux résultats de la présente étude montrent que l'augmentation de la teneur en NaCl dans l'eau d'irrigation provoque la réduction du nombre de pousses, du nombre des feuilles, de la vigueur, de la teneur en proline et de l'indice SPAD. Cette réduction est variable aussi en fonction du porte – greffe utilisé. Ces résultats corroborent avec plusieurs travaux sur le stress salin. En effet, pour s'adapter au stress salin, la plante peut éviter les dommages par la réduction de sa croissance (Yeo, 1983 ; Zhu, 2002 ; Ben Mahiou et *al.*, 2009). C'est l'effet le plus commun des stress abiotiques sur la physiologie des plantes. La réduction de la croissance est une capacité adaptative nécessaire à la survie d'une plante exposée à un stress abiotique. En effet, ce retard de développement permet à la plante d'accumuler de l'énergie et des ressources pour combattre le stress avant que le déséquilibre entre l'intérieur et



l'extérieur de l'organisme n'augmente jusqu'à un seuil où les dommages seront irréversibles. La croissance est inversement corrélée à la résistance au stress salin d'une espèce ou d'une variété (Zhu, 2002). De même, la diminution de la surface foliaire résulte en partie d'une réduction de l'assimilation nette en CO<sub>2</sub> (Santiago *et al.*, 2000) provoquée par la fermeture des stomates en réponse au faible potentiel de l'eau du sol ou du substrat, conséquence à son tour due à la concentration élevée en sel (Kaya *et al.*, 2001). La teneur en eau de la feuille est un bon indicateur de son état hydrique. La diminution de la teneur en eau (TE) indique une perte de turgescence qui résulte d'une limitation de disponibilité en eau pour l'extension cellulaire et le développement (Katerji *et al.*, 1997).

Nos résultats montrent que la TE diminue légèrement chez les plantes stressées par la salinité. Particulièrement chez les plants greffés sur le Bigaradier lorsqu'elles sont soumises aux concentrations de 2,53 et 3,22 g/L. Ce qui semble être un comportement de « tolérance » au stress salin. En effet, l'absorption d'eau est maintenue à un niveau suffisant pour éviter la déshydratation des tissus de la plante (Hassani *et al.*, 2008). De même, la réduction de l'indice chlorophyllien des feuilles par les traitements salins peut résulter d'une inhibition de la biosynthèse de la chlorophylle ou d'une activation de la chlorophyllase (Murkute *et al.*, 2005).

D'autre part, l'accumulation de proline est l'une des manifestations les plus remarquables du stress salin et hydrique. Globalement, les espèces qui se sont montrées les plus sensibles au sel sur le plan morpho-physiologique, réagissent en accumulant plus rapidement de la proline. Par contre, celles qui se sont montrées tolérantes, présentent une stabilité relative ou une faible accumulation de leur teneur en proline comparativement à celles sensibles (Lemzeri *et al.*, 2007). Chez les plantes supérieures, la proline est accumulée en cas de stress, aussi bien suite à une augmentation de sa synthèse que par une réduction de sa dégradation (Nakashima *et al.*, 1998). Chez les agrumes, l'accumulation de la proline-bétaine en condition de stress a été observée chez les différents génotypes comme l'oranger cv Valencia et le citronnier Lisbonne (Llyod and Howie, 1989); l'oranger cv Navel Washington et le pomelo cv Marsh (Llyod *et al.*, 1990). Notre étude phytochimique a montré une accumulation très marquée de la proline chez les plants greffés sur le Citrange C35 (798,32 µg/g.MF) enregistré avec le stress salin le plus sévère (3,22g/l). Cependant, chez les plants greffés sur le Bigaradier et le Citrus Volkameriana, on a enregistré des valeurs nettement inférieures. Ces résultats sont dans le même sillage que ceux obtenus par Nieves *et al.*, (1991) qui ont rapporté qu'une accumulation de proline serait une caractéristique du porte-greffe. Ces résultats attestent d'une bonne tolérance au stress salin pour le Bigaradier. Par contre, Citrange C35 s'avère être plus sensible vis-à-vis de la salinité.

#### 4. Conclusion

La présente étude a montré que l'irrigation avec l'eau saline T3 provoque une réduction de la croissance végétative de la clémentine. Néanmoins, cette réduction est dépendante du porte-greffe utilisé. En effet, la combinaison clémentine / C35 s'avère la plus sensible à la salinité des eaux d'irrigation. Cette tendance est confirmée par les analyses biochimiques qui ont montré une augmentation très importante de la proline avec le traitement CT3.

De ce fait, il s'avère que le porte-greffe Citange C35 ne peut pas substituer le bigaradier dans les régions agrumicole où la salinité des eaux d'irrigation est élevée. De même, il est nécessaire de poursuivre les essais sur plusieurs cycles et élargir les travaux sur d'autres porte-greffes et d'autres combinaisons variétés/PG.

#### 5. Références

- Ben Mahioul B, Daguin F, Kaid-Harche M (2009)** Effet du stress salin sur la germination et la croissance in vitro du pistachier (*Pistacia vera* L.). C. R. Biologies, 332 :164- 170 .
- Bouaouina S, Zid E, Hajji M (2000)** Tolérance à la salinité, transports ioniques et fluorescence chlorophyllienne chez le blé dur (*Triticum turgidum* L.) .CIHEAM – Options Méditerranéennes. pp. 239-243.
- El-Hendawy SE, Hu Y, Gamal MY, Ahmed MA, Salah EH, Schmidhalter U, (2005)** Evaluating salt tolerance of wheat genotypes using multiple traits. *Europ. J. Agr.*, 22, pp. 243-253.
- Hassani A, Dellal A, Belkhouja M, Kaid-Harche M (2008)** Effet de la Salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum Vulgare*). *Eur. J. Sci. Res.* 23: 61-69.
- Katerji N, Van Hoorn JW, Hamdy A, Mastrorilli M, Mou Karzel E (1997)** Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agric. Water Manage.* 34: 57-69.

- Kaya C, Higgs D, Kirnak H (2001)** The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. *Bulg. J. plant physiol.* 27: 47-59.
- Kozlowski S (1997)** Response of woody plants to flooding and salinity. *Tree physiology monograph*, n°1, pp. 1-29.
- Lamzeri H (2007)** Réponses écophysiologicals de trois espèces forestières du genre *Acacia*, *Eucalyptus* et *Schinus* (*A. cyanophylla*, *E. gomphocephala* et *S. mölle*) soumises à un stress salin. Thèse de magistère en Ecologie et Environnement. Université Mentouri Constantine. 141p.
- Llyod J, Kriedemann P, Aspinall D (1990)** Contrasts between citrus species in response to salinization : An analysis of photosynthesis and water relation for different rootstock-scion combination . *Physiol . Plant* .78, 236-246.
- Lloyd J, Howie H (1989)** Salinity, Stomatal Responses and Whole-Tree Hydraulic Conductivity of Orchard 'Washington Navel' Orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. *Funct. Plant Biol.* 16, 169-179.
- Mademba-Sy F (2004)** Contribution à la recherche d'indicateurs physiologiques et biochimiques de la tolérance des agrumes à la salinité. Thèse de doctorat. Université de Rennes. CIRAD. 164p.
- Murkute AA, Sharma S, Singh SK (2005).** Citrus in terms of soil and water salinity. *Journal of Scientific & industrial Research* 64 : 393-402.
- Nakashima K, Satoh R, Kiyosue T, Yamaguchi-Schinozaki K, Schinozaki K (1998)** A gene encoding proline deshydrogenase is not only induced by proline and Hypoosmolarity, but is also developmentally regulated in the reproductive organs of *Arabidopsis* . *Plant Physiol.* 118(12): 33-41.
- Nieves M, Cerdá A, Botella M (1991)** Salt tolerance of two lemon scions measured by leaf chloride and sodium accumulation, *J. Plant Nutr.* 14 (6) :623–636.
- Rashad MB, Ashraf MY, Mumtaz Khan M, Jaskani MJ, Ashfaq M (2011)** Influence of salt stress on growth and biochemical parameters of citrus rootstocks. *Pak. J. Bot.*, 43(4): 2135-2141.
- Salah B (2005)** Contribution à l'étude des déterminants physiologiques, génétiques et moléculaires de la tolérance des agrumes à la salinité. Thèse de doctorat : Science agronomique : Montpellier, ENSAM. CIRAD. 132p.
- Santiago LS (2000)** Morphological and physiological responses of hawaiian *Hibiscus tiliaceus* populations to light and salinity. *Int. J. Plant Sci.*, 161 : 99-106.
- Yeo AR (1983)** Salinity resistance: physiology and prices. *Physiologia Plantarum* 58: 214-222.
- Zhu JK (2002)** Salt and drought stress signal transduction in plants. *An. Rev. Of Plant Biol.* 53: 247-273. DOI:10.1146/annurev.arplant.53.091401.143329
- NOT CITED Zid E, Grignon C (1991)** Les tests de selection precoce pour la resistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. In: L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides (p. 91-108). Paris, FRA : Aupelf-Uref. John Libbey. Eurotext.