

# Criblage *in vitro* des graines d'accessions locales de ricin (*Ricinus communis* L.) en conditions de stress salin

B. DIALLO<sup>1</sup>, A. N'DIAYE<sup>2</sup>, S. A. N. SAMBA<sup>3</sup>, E. H. M. LEYE<sup>1</sup>, D. SANE<sup>4</sup>,

<sup>1</sup>Unité de Recherche en Culture *In vitro*, Laboratoire National de Recherches sur les Productions Végétales, Institut Sénégalais de Recherches Agricoles, Bel-Air, BP : 3120, Dakar, Sénégal.

<sup>2</sup>Centre National de Recherches Agronomiques de Bambey CNRA/Bambey, BP : 211, Bambey Sénégal.

<sup>3</sup>École Nationale Supérieure d'Agriculture, Université de Thiès, BP: 967, Thiès, Sénégal.

<sup>4</sup>Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, BP 5005, Sénégal.

E-mail : bass\_dialo@yahoo.fr, Tél. (221) 77 632 33 87.

Soumis le : 04 / 05 / 2015

Accepté le : 02 / 01 / 2016

## RESUME

Le ricin (*Ricinus communis* L.) est une plante peu exigeante dont la culture offre d'énormes potentialités économiques pour les exploitants agricoles sénégalais. L'identification de génotypes performants avec des rendements acceptables en conditions de stress salin constitue une des solutions pour promouvoir cette culture sur des sols inaffectés aux cultures vivrières. Quatre accessions locales de ricin ont été cultivées durant un mois sur le milieu de Murashige et Skoog (MS) modifié et additionné de 0 ; 25 ; 50 ; 100 et 150 mM de chlorure de sodium (NaCl). Les réponses des accessions ont été évaluées en conditions *in vitro* sur la base de paramètres morphologiques, biochimiques et de survie des vitroplants. L'effet de la salinité sur ces paramètres mesurés a permis de classer les accessions en groupe tolérant (acc1), moyennement tolérant (acc7) et sensible (acc3 et acc4). La concentration 50 mM de NaCl a été identifiée comme un seuil de tolérance critique et discriminant permettant une classification des accessions de ricin selon leur sensibilité au NaCl. La biomasse aérienne est apparue comme un critère pertinent pour classer les accessions de ricin. Les mesures des teneurs en chlorophylle des feuilles des vitroplants ont permis d'aboutir à la même classification des groupes.

**Mots clés** : criblage, *Ricinus communis*, salinité, Sénégal.

## ABSTRACT

IN VITRO SCREENING OF LOCAL ACCESSIONS OF CASTOR BEAN SEEDS (*RICINUS COMMUNIS* L.)  
UNDER CONDITIONS OF SALINITY STRESS

Castor bean (*Ricinus communis* L.) is an undemanding plant whose cultivation has enormous economic potential for Senegalese farmers. The identification of efficient genotypes tolerant to salt stress condition could constitute a significant result to promote ricin culture specifically in margin soils. Four local accessions of castor were cultivated, using *in vitro* conditions for four weeks on MS modified medium supplemented with 0, 25, 50, 100, 150 mM NaCl. *In vitro* plants responses to salinity were recorded in terms of morphological and biochemical parameters and the rate of plant survival. The effect of different levels of salinity on these parameters was used to classify the accessions in tolerant group (acc1), moderately tolerant (acc7) and sensitive (acc3 and acc4). The concentration 50 mM of NaCl was identified as a discriminant level for castor accessions classification and a critical level of tolerance. The *in vitro* plants shoot biomass, appeared a relevant parameter to be used for classification of castor accessions under *in vitro* conditions. The content of leaf chlorophyll for *in vitro* plants confirmed the classification of Castor bean accessions obtained with morphological parameters according to their sensitivity to the salinity.

**Keywords** : screening, *Ricinus communis*, salinity, Senegal

## INTRODUCTION

Le ricin (*Ricinus communis* L.) est une Euphorbiacée répandue sur tous les continents, particulièrement dans les zones tropicales et subtropicales où la plante trouve les conditions les plus favorables à son développement (Polvèche, 1996 ; Ivan, 1998). L'espèce occupe une place singulière parmi les oléagineux, notamment en raison de sa tolérance à la sécheresse, sa robustesse son adaptation aux sols pauvres des zones semi arides ainsi que l'absence de compétition avec les cultures vivrières et forestières (Pina, 2005 ; Borg 2009). Les graines de la plante contiennent une huile riche en acide ricinoléique qui lui confère des propriétés spécifiques très recherchées (Rojas-Barros *et al.*, 2004 ; Velasco *et al.*, 2005). En effet, l'huile entre dans la composition de nombreux produits utilisés dans divers secteurs industriels, chimiques, pharmaceutiques et cosmétiques (Polvèche, 1996 ; Maroyi, 2007).

Ces dernières années, le ricin a suscité un intérêt particulier à l'échelle mondiale notamment en Asie, Amérique Latine (Weiss, 2000 ; FAO, 2006) et en Afrique (Maroyi, 2007) qui sont les principaux producteurs de graines. Ce regain d'intérêt est essentiellement dû aux potentialités de l'huile que renferment les graines de ricin pour la production de biocarburant (IFHVP, 2005 ; Nielsen *et al.*, 2011). En effet, l'huile de ricin possède un pouvoir calorifique évalué à 35 528 kJ/l comparable à ceux de *Jatropha curcas* L. et du gasoil qui s'élèvent respectivement à 35 764 kJ/l et 36 687 kJ/l (IFHVP, 2005).

Au Sénégal, la perspective d'exploiter cette culture sur des zones marginales dans le cadre de la promotion des agrocarburants nécessite d'explorer le comportement de génotypes locaux de ricin vis-à-vis de certaines contraintes abiotiques telle que la salinité. L'utilisation des techniques de culture *in vitro* constitue un moyen de supprimer les fluctuations spatiotemporelles et de caractériser le comportement de la plante soumise à un stress salin en milieu contrôlé.

Cette étude a pour objectif d'évaluer, en conditions *in vitro*, les réponses face à la salinité de quatre accessions locales de graines de ricin en vue de définir leur seuil de tolérance ainsi qu'un indicateur pertinent

pouvant être utilisé comme critère discriminant entre différentes accessions de ricin. Ce paramètre pourra servir de critère simple de sélection chez le ricin pour l'évaluation d'un grand nombre de génotypes en conditions *in vitro*.

## MATERIEL ET METHODES

### MATERIEL ET CONDITIONS DE CULTURE

Les accessions de graine de ricin utilisées (acc1, acc3, acc4 et acc7) appartiennent à la collection de la banque de gène de l'Unité de Recherche en Culture *In vitro* (URCI) du Laboratoire National de Recherches sur les Productions Végétales (LNRPV) de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA). Elles ont été récoltées en avril 2007 sur les pieds de ricin des peuplements naturels des marécages de Hann-Maristes, dans les petites Niayes de Dakar (14° 44' 12" N et 17° 25' 57 O). Des lots de graines de chaque accession ont été désinfectés par trempage durant 10 minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium commerciale (8° Chlorométrique) à 1 % puis rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile avant d'être placés en germination dans des boîtes de Pétri entre deux papiers buvards stériles imbibés d'eau distillée. Les jeunes plantules (âgées de 7 jours) homogènes ont été sélectionnées et placées en culture dans des tubes à essais sur du papier buvard imbibé de 5 ml d'une solution de ¼ de MS (Murashige et Skoog, 1962) modifié (CaCl<sub>2</sub> est substitué par [Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O] pour supprimer le chlore du milieu nutritif).

Pour effectuer les tests de salinité, il a été additionné à ce milieu de base, différentes concentrations de NaCl correspondant aux traitements à 0 ; 25 ; 50 ; 100 et 150 mM. Le pH de la solution nutritive dépourvue de saccharose et d'agar a été ajusté à 5,7 avant autoclavage à 1bar pendant 20 mn. Chaque traitement au NaCl porte sur 24 tubes contenant chacun un *vitroplant*. Les tubes ont été placés selon un dispositif complètement randomisé dans une chambre de culture à 28°C sous une intensité lumineuse de 50 µE s<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup>, une hygrométrie relative de 70 ± 5 % HR et une photopériode à 16 h/jour et 8 h/nuit.

## Paramètres mesurés

### Taux de survie

Le taux de survie a été calculé, pour chaque traitement selon la formule comme suit :  
Taux de survie = Nombre de *vitroplants* vivants x 100/ Nombre total de *vitroplants*

Un *vitroplant* a été considéré comme mort lorsque la tige, les feuilles et les racines ont été complètement nécrosées.

### Symptômes de toxicité

Le pourcentage de feuilles altérées a été évalué selon la formule suivante :

% de *vitroplants* affectés = Nombre de *vitroplants* avec symptômes x 100/ Nombre total de *vitroplants* traités

### Paramètres de croissance

Les réponses des *vitroplants* au terme d'un mois de culture ont été appréciées à l'aide paramètres suivants : longueur des parties aériennes et racinaires, biomasses fraîches et sèches des tiges et racines ainsi que le nombre de racines latérales néoformées par *vitroplant*. Les biomasses déterminées pour chaque type d'organe aérien et racinaire ont été mesurées par les masses de matières fraîches et sèches après séchage durant 48 h dans une étuve à 80°C.

L'indice de sensibilité (IS) a été utilisé pour classer les génotypes selon leur capacité à tolérer le chlorure de sodium. Pour un paramètre donné (P), l'indice de sensibilité équivaut à l'écart entre les *vitroplants* traités et les témoins. Il est calculé selon la formule suivante :

$$IS = [(P_s - P_t)/P_t] \times 100$$

avec  $P_s$  la valeur du paramètre chez les *vitroplants* produits sous contrainte saline et  $P_t$  la valeur du paramètre chez les plantes témoins.

## Analyse biochimique : dosage des chlorophylles a et b

L'extraction de la chlorophylle a été faite avec de l'acétone 80 % suivant la méthode décrite par Makeen *et al.* (2007). Pour chaque échantillon, 10 mg de limbe ont été prélevés sur le tiers médian des plus jeunes feuilles et conditionnés dans des sacs en polyéthylène noirs avant d'être broyés dans 5 ml d'acétone 80 %. Le broyage est répété plusieurs fois afin d'extraire la totalité des pigments chlorophylliens. Les broyats ainsi obtenus ont été transvasés dans des tubes Falcon puis centrifugés à 4 500 g à 4°C pendant 10 min avant d'être incubés à 4°C à l'obscurité pendant 24 h. Les chlorophylles a et b ont été respectivement dosées aux absorbances de 663 et 645 à l'aide d'un spectrophotomètre (GENESYS 20).

La quantité de chlorophylle totale (chlorophylle a et b) a été calculée selon la formule de Arnon (1949).

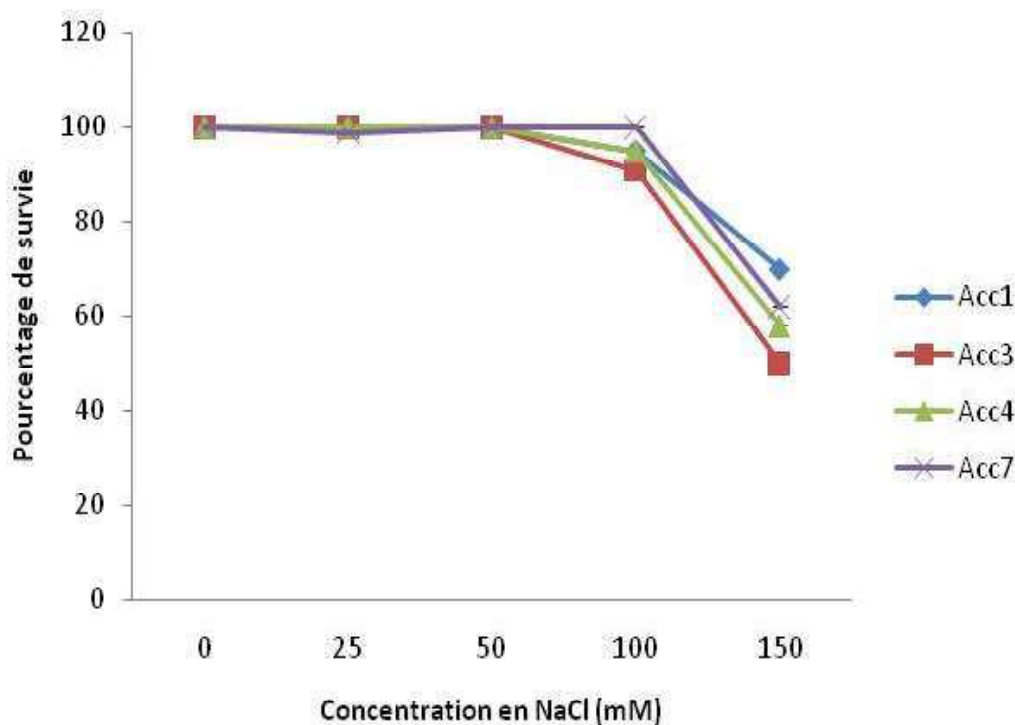
### Analyses statistiques

Les données obtenues par mesure des paramètres biochimiques et de croissance ont été traitées à l'aide du logiciel XStat (version 2011). Les coefficients de régression ont été déterminés par Excel pour chaque paramètre mesuré. L'analyse en composantes principales a été réalisée à l'aide du logiciel R avec ADE4 pour un classement des accessions de ricin.

## RESULTATS

### TAUX DE SURVIE

Les taux de survie des *vitroplants* ont été de 100 % chez toutes les accessions pour les concentrations de NaCl inférieures ou égales à 50 mM (Figure 1). La survie des *vitroplants* a baissé à partir de 100 mM. L'acc1 a enregistré 70 % de survie à 150 mM tandis que l'acc3, pour le même traitement, a enregistré une mortalité correspondant à la moitié de son effectif traité.



**Figure 1** : Taux de survie des vitroplants des accessions de ricin en fonction des concentrations de NaCl.

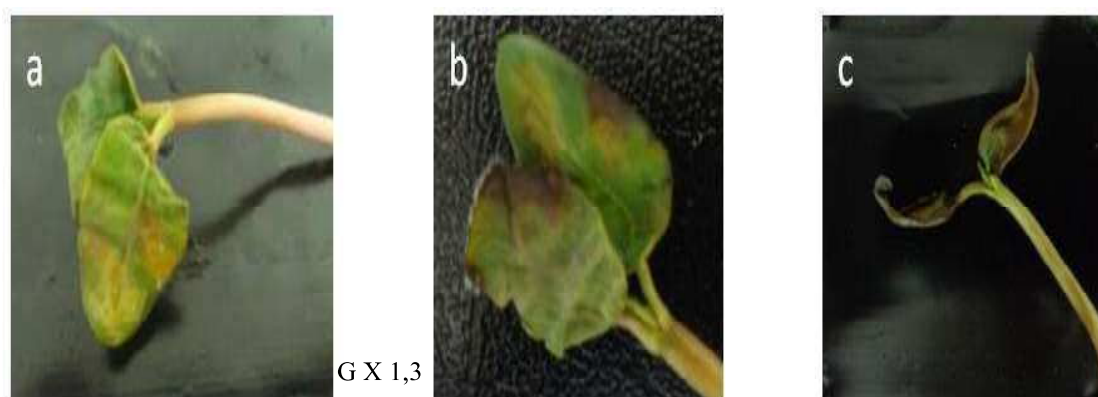
*Survival rate of vitroplant accessions of Castor bean depending on NaCl concentration .*

#### SYMPTOMES DE TOXICITE

Pour toutes les accessions testées, les chloroses observées sur les feuilles ne sont apparues qu'avec les concentrations supérieures ou égales à 50 mM. L'apparition et la sévérité de ces symptômes de toxicité foliaires se sont accentuées avec la durée du traitement, la concentration saline et les accessions traitées (Figures 2 a et b). A 50 mM, les symptômes, encore très superficiels, sont apparus dès la deuxième semaine chez les vitroplants des acc3, acc4 et acc7. Ils ont affecté respectivement 62 ; 70 et 41 % des vitroplants traités. Par contre, le temps pour l'apparition de ces symptômes a été plus long (troisième semaine d'observation) concernant l'acc1

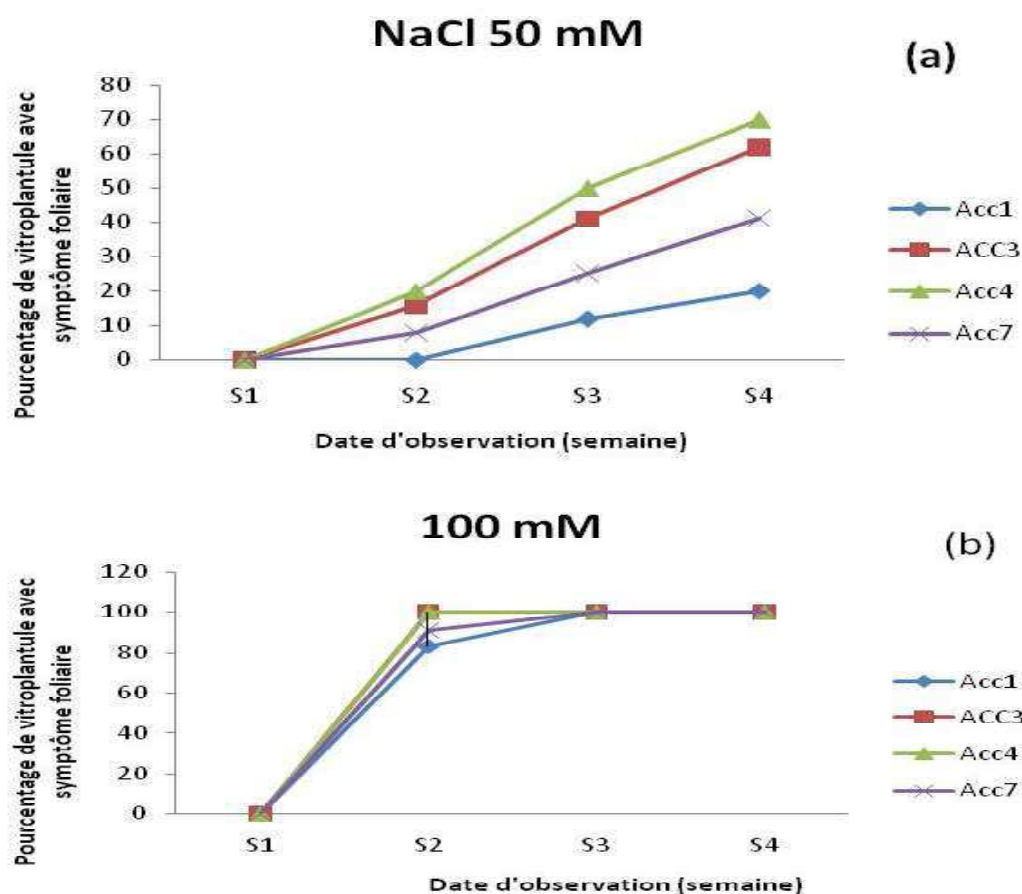
chez qui seulement 20 % des vitroplants traités ont été affectés (Figure 3 a).

Les symptômes de toxicité foliaires, plus sévères à 100 mM, sont apparus dès la deuxième semaine chez toutes les accessions et ont affectés tous les vitroplants testés (Figure 3 b). Ils correspondent d'abord à des tâches jaunâtres qui apparaissent après une semaine sur la surface et les extrémités des limbes des feuilles les plus âgées (Figure 2 a). Elles peuvent ensuite évoluer progressivement en des tâches nécrotiques avec l'apparition d'une zone de transition délimitant les parties saines et nécrotiques de la feuille (Figure 2 b). L'effet nécrotique du NaCl sur les feuilles peut affecter plus sévèrement celles-ci qui brunissent entièrement (Figure 2 c).



**Figure 2 :** Symptômes foliaires observés sur les vitroplants après quatre semaines de culture en présence de 100 mM NaCl : (a) symptôme foliaire chez l'acc1. (b) Apparition de nécroses foliaires limitées chez l'acc7. (c) Nécrose foliaire généralisée chez l'acc3.

*Leaf symptoms observed on vitroplants cultivated after four weeks in MS medium adjusted with (NaCl at 100 mM) : (a) foliar symptoms for accession 1 ; (b) Limited leaf necrosis for accession 7 ; (c) Leaf necrosis widespread among the accession 3.*



**Figure 3 :** Effet de la salinité sur l'évolution des symptômes foliaires des quatre accessions de ricin cultivées en présence de NaCl à 50 mm (a) et à 100 mM (b).

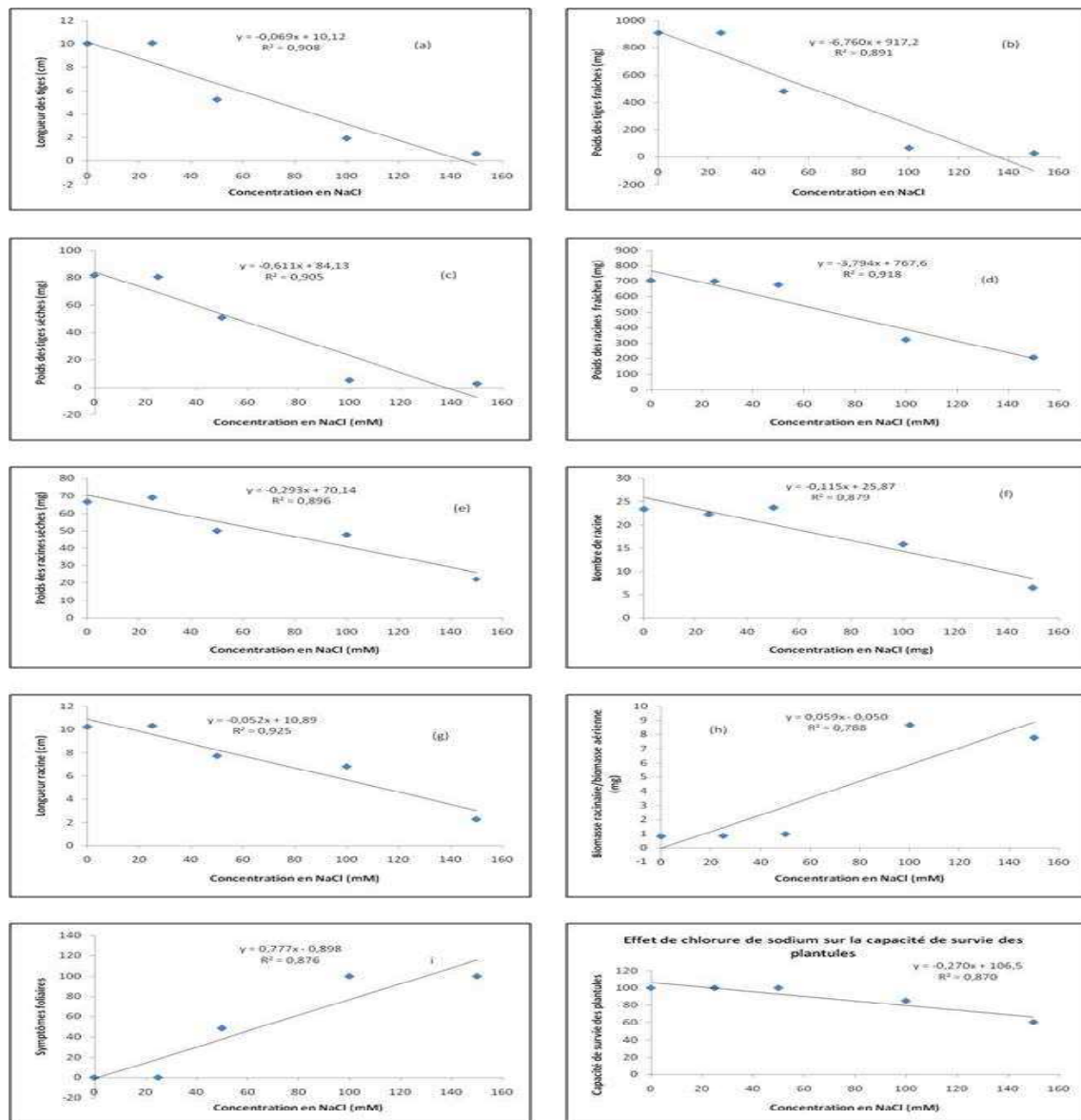
*Effect of salinity on the development of foliar symptoms of four accessions of Castor bean cultured in the presence of NaCl 50 mm (a) and NaCl 100 mM (b).*

## EFFETS DU NaCl SUR LES PARAMETRES MORPHOLOGIQUES

Pour étudier et classer les accessions de ricin en réponse au stress induit par le NaCl, l'intensité et le sens de la relation entre la salinité et les différents paramètres mesurés ont d'abord été étudiés (Figure 4).

Une corrélation ( $R^2 = 0,788$ ) a été trouvée entre la salinité et le rapport des poids secs des racines et des parties aériennes (PR/ PA).

La résolution des équations de régression des Figures 4.c (poids sec des parties aériennes : PA  $y = -0,611x + 84,13$ ) et 4.e (poids sec des racines : PR  $y = -0,293x + 70,14$ ) a permis de déterminer les teneurs en NaCl pour lesquelles les productions de biomasses aériennes et racinaires sont totalement inhibées. Concernant la partie aérienne, la concentration de NaCl calculée correspond à 137 mM. Elle a été évaluée à 239 mM pour la partie racinaire.



**Figure 4 :** Effet du NaCl sur la longueur des tiges (a), le poids des tiges fraîches (b), le poids des tiges sèches (c), poids des racines fraîches (d), poids des racines sèches (e), nombre de racine (f), longueur des racines (g), biomasse racinaire/biomasse aérienne (h), symptômes foliaires (i), capacité de survie (j).

Effect of NaCl on shoot length (a), the fresh weight of stems (b), the weight of the dried stems (c), fresh weight of roots (d), root dry weight (e), root number (f), root length (g), root biomass / aboveground biomass (h), foliar symptoms (i), survivability (j)

## CLASSEMENT DES VARIETES DE RICIN SELON LA TOLERANCE AU NAACL

### Classement des géotypes en fonction de l'indice de salinité (IS)

Les indices de salinité ont fortement varié en fonction des accessions et des concentrations de NaCl dans le milieu de culture (Tableau 1). Les valeurs des indices de salinité calculés sont plus discriminantes à la concentration 50 mM de NaCl. Pour ce traitement on a pu classer les accessions étudiées en :

« groupe tolérant » constitué par l'acc1 qui n'a perdu que 24,2 % de ses capacités morphogénétiques à se développer et à produire de la biomasse aérienne ;

« groupe moyennement tolérant » formé par l'acc7 qui, bien que perdant la moitié de ses capacités à produire de la biomasse (58,7 %), est resté moins affectée ;

« groupe sensible » constitué par l'acc3 et l'acc4 qui ont respectivement perdu 64,1 et 66,6 % de leur capacité à se développer.

### Classement des géotypes par l'analyse en composantes principales (ACP)

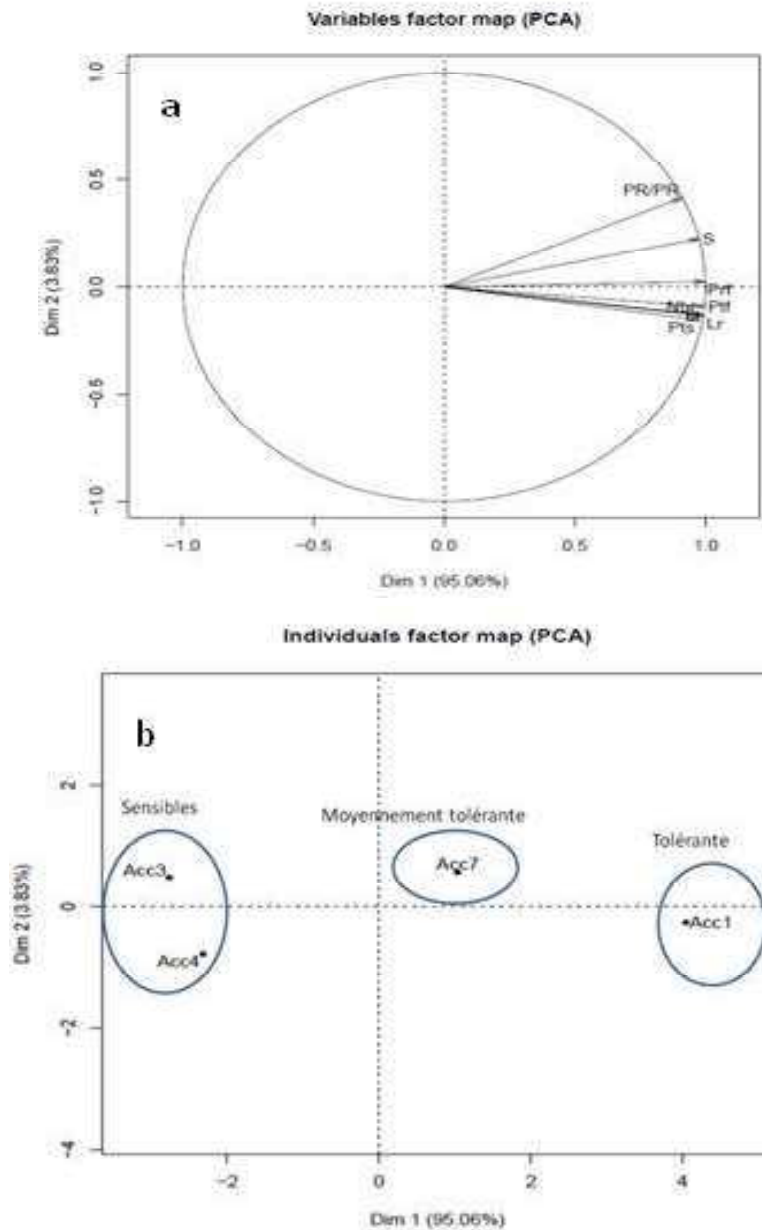
Les Figures 5 a et b représentent respectivement le cercle de corrélation et l'analyse en composantes principales (ACP) de l'ensemble des valeurs de huit paramètres relatives à la survie, à la croissance et au développement des vitroplants (poids sec et frais des tiges, longueur des tiges et racines, nombre de racine, poids frais des racines, rapport poids sec des racines/poids sec partie aérienne). L'analyse a porté sur le traitement de NaCl à 50 mM. La règle de Kaiser ainsi que le critère du coude nous ont fait choisir les deux premières composantes qui conduisaient à un taux d'inertie respectivement expliqué de 95,06 et 3,83 %.

Sur l'axe 1 (Figure 5 a), les résultats discriminent positivement et significativement toutes les variables mesurées contrairement à l'axe 2. L'ACP (Figure 5 b) a permis de classer les accessions de ricin en groupe tolérant (acc1), moyennement tolérant (acc7) et sensible (acc3 et acc4).

**Tableau 1 :** Variation de l'indice de sensibilité au NaCl des vitroplants de ricin. IS calculé sur la base des biomasses des parties aériennes,  $IS = [(Ps - Pt) / Pt] \times 100$

*Variation in sensitivity index of NaCl in vitro plantlets castor. IS calculated based on the biomass of the aerial parts,  $IS = [(Ps - Pt) / Pt] \times 100$*

Accession	Indice de salinité (IS)			
	Concentration de NaCl (mM)			
	25	50	100	150
Acc1	-0,053 ± 0,02	-24,2 ± 2,2	-93,4 ± 3,3	-96,4 ± 2,3
Acc3	-1,1 ± 0,6	-64,1 ± 2,4	-92,5 ± 3,6	-96,8 ± 1,7
Acc4	0,9 ± 0,7	-66,6 ± 3,2	-93,8 ± 2,6	-95,2 ± 2,5
Acc7	4,5 ± 1,5	-58,7 ± 2,7	-92,7 ± 1,8	-97,2 ± 1,2



**Figure 5 :** (a et b) : Cercle de corrélation (a) et projection des accessions de ricin dans le plan factoriel défini par les axes 1 et 2. Analyse en composantes principales (ACP) accessions de ricin traitées avec NaCl à 50 mM (b).

(a and b) : Circle of correlation (a) and projection of castor accessions in the factorial plane defined by the axes 1 and 2. Principal component analysis (PCA) treated with castor accessions 50 mM NaCl (b).



## DOSAGE DE LA CHLOROPHYLLE

**Chlorophylle a**

Les résultats du tableau 2 montrent que toutes les accessions ont enregistré une baisse d'accumulation de chlorophylle a dès la plus faible teneur de NaCl. Les acc1 (21,19 %) et acc7 (37 %) sont apparues comme les moins affectées à l'effet du chlorure de sodium 50 mM comparés aux témoins. Les acc3 et acc4 sont apparues plus affectées avec des taux de réduction respectifs de 63,5 et 50 % par rapport aux témoins. Les fortes concentrations de NaCl à 100 et 150 mM ont affecté à plus de 50 % les teneurs en chlorophylle a, indifféremment des accessions étudiées.

**Chlorophylle b**

Les taux de perte de teneur en chlorophylle b enregistrés ont varié en fonction des accessions et des concentrations de NaCl (Tableau 3). Les acc1 et acc7 sont apparues plus tolérantes avec des taux de réduction respectifs de 31,83 et 35,43 % tandis que les acc3 et acc4, plus sensibles, ont enregistré des taux de réduction respectifs, de 43,6 et 47,85 % comparativement aux témoins. Les taux de pertes de chlorophylle

b n'ont pas atteint 50 % à la concentration 50 mM de NaCl pour toutes les accessions soumises au stress salin.

Toutefois, contrairement à la chlorophylle a, la teneur en chlorophylle b n'est affectée chez aucune accession à la plus faible concentration de 25 mM. Les taux de réduction de la chlorophylle ont varié de 2,35 à 8,18 % par rapport aux témoins pour la plus faible concentration de NaCl à 25 mM. Par contre, pour le même traitement salin, les gains de teneurs en chlorophylle b accumulés par rapport aux témoins ont varié de 0,90 à 4,64 chez toutes les accessions soumises à la contrainte saline.

**Chlorophylles a et b**

Globalement les teneurs en chlorophylle totale des accessions de ricin ont été peu affectées pour le traitement de NaCl à 25 mM (Tableau 4). Par contre, la concentration 50 mM de NaCl induit des taux de réduction bien inférieurs à 50 % pour l'Acc1 et l'Acc 7. De même, les fortes concentrations de NaCl à 100 et 150 mM ont provoqué de faibles accumulations de chlorophylle totale au niveau des feuilles chez toutes les accessions.

**Tableau 2** : Taux de réduction de la teneur en chlorophylle a exprimé en pourcentage du témoin en fonction des concentrations croissantes de NaCl.

*Rate of reduction in chlorophyll a depending on NaCl concentration.*

Accession	Concentration de NaCl (mM)			
	25	50	100	150
Acc1	-2,35 ± 0,8	-21,19 ± 4,2	-66,81 ± 7,4	-92,36 ± 5,2
Acc3	-8,18 ± 1,7	-63,55 ± 5,5	-79,94 ± 4,8	-93,38 ± 2,6
Acc4	-2,77 ± 0,9	-50,01 ± 6,6	-64,44 ± 3,6	91,12 ± 3,7
Acc7	-7,15 ± 1,4	-36,96 ± 4,1	-57,72 ± 6,7	-88,82 ± 5,8

**Tableau 3** : Taux de réduction de la teneur en chlorophylle b exprimé en pourcentage du témoin en fonction des concentrations croissantes de NaCl.*Rate of reduction of chlorophyll b depending on NaCl concentration.*

Accession	Concentration de NaCl (mM)			
	25	50	100	150
Acc1	0,90 ± 0,7	-31,83 ± 1,4	-75,66 ± 2,6	-85,35 ± 1,3
Acc3	4,64 ± 1,6	-43,66 ± 4,3	74,50 ± 3,2	-84,08 ± 2,4
Acc4	4,03 ± 2,2	-47,85 ± 2,1	-75,88 ± 5,7	-85,80 ± 1,5
Acc7	3,68 ± 1,2	-35,43 ± 1,1	-73,47 ± 4,9	-84,46 ± 4,8

**Tableau 4** : Taux de réduction de la teneur en chlorophylle a et b exprimés en pourcentage du témoin en fonction des concentrations croissantes de NaCl.*Rate of reduction of chlorophyll a and b depending on NaCl concentration.*

Accession	Concentration de NaCl (mM)			
	25	50	100	150
Acc1	-0,6 ± 0,4	-26,9 ± 4,4	-71,6 ± 5,5	-88,5 ± 5,4
Acc3	-2,4 ± 0,7	-54,6 ± 3,7	-77,5 ± 4,4	-89,2 ± 4,1
Acc4	0,6 ± 0,3	-48,9 ± 4,1	-70,2 ± 5,8	-88,4 ± 5,2
Acc7	-1,8 ± 0,6	-36,20 ± 3,4	-65,4 ± 6,3	-86,6 ± 6,3

## DISCUSSION

Nos résultats ont mis en évidence une augmentation des symptômes de toxicité des feuilles et une baisse des taux de survie qui s'accroissent, selon les accessions, avec les fortes teneurs en NaCl et la durée du traitement. Ces résultats seraient les conséquences d'une perturbation de l'alimentation en eau et en nutriment de la plante ainsi que d'une toxicité par excès d'accumulation de sel au niveau des feuilles (Flowers et Yeo, 1981 ; Xiong et Zhu, 2002). Les symptômes de toxicité foliaires observés pourraient résulter d'une augmentation du potentiel osmotique dans le substrat de

culture auquel cas, la turgescence cellulaire reposerait sur l'accumulation d'ions dans la vacuole, ce qui altère les organites cellulaires avec l'apparition des brûlures foliaires (Pessarakli, 1991 ; Maas, 1993) et la mort de la plante en définitive (Flowers et Yeo, 1981).

Nos résultats ont également montré que les teneurs élevées en NaCl provoquent une réduction significative des biomasses aériennes chez les accessions de ricin étudiées. Ces effets dépressifs du NaCl ont été précédemment observés et décrits en conditions *in vitro* chez le pistachier (Benmahioul *et al.*, 2009), la vigne (Hamrouni *et al.*, 2007) l'eucalyptus (Morabito *et al.*, 1994) mais aussi en conditions *ex vitro* chez le ricin (Raghavaiah, 2006) et l'Eucalyptus (Ghrib *et al.*, 2011).

Par ailleurs, la concentration 50 mM de NaCl a été identifiée comme seuil critique pour lequel nous sommes parvenus à déceler des différences nettement significatives dans les réponses des accessions de ricin pour chacun des paramètres mesurés. Ainsi, nous avons pu classer les accessions en groupe tolérant (acc1), moyennement tolérant (acc7) et sensible (acc3 et acc4) en utilisant la biomasse aérienne comme critère de classement. Ce résultat a été confirmé par l'analyse en composantes principales (ACP) effectuée sur la base des mesures relatives à la taille et aux biomasses des parties aériennes et racinaires.

Les résultats ont également révélé que l'effet dépressif du sel porte plus sur les organes aériens que sur les racines. En effet, il a été observé une certaine potentialité des vitroplants de ricin à poursuivre un développement racinaire en présence d'une teneur en NaCl cent fois supérieure à celle inhibant la croissance aérienne. Une telle observation a été décrite par Greenway et Munns (1980) qui rapportent que l'inhibition de la croissance des racines est généralement moins marquée que celle des parties aériennes au niveau desquelles une accumulation de Na<sup>+</sup> et de Cl<sup>-</sup> peut inhiber la croissance et devenir toxique pour la plante. Des effets similaires du NaCl ont été décrits chez les agrumes (Rochdi *et al.*, 2005), le pistachier (Tavallali *et al.*, 2008) ainsi que le trèfle (Khaled *et al.*, 2003). Selon Zhu (2001), ce comportement de la plante correspondrait à une stratégie adaptative qui consiste à retarder le développement des parties aériennes pour accumuler des ressources et de l'énergie lui permettant de lutter contre le stress salin.

Le dosage des chlorophylles a montré que le NaCl induit une réduction des teneurs en chlorophylle (a, b et totale) qui varie suivant les accessions et les teneurs de NaCl dans le milieu de culture. La chlorophylle b est apparue moins sensible à l'effet du NaCl que la chlorophylle a. Ces résultats corroborent ceux déjà obtenus par de nombreux auteurs (Tahri *et al.*, 1998, M'Hamed *et al.*, 2008) et confirment le classement des accessions de ricin établie suivant les paramètres morphologiques mesurés sur les vitroplants.

Cependant, la classification *in vitro* devra être confirmée pour des stades ultérieurs de développement des plantes (floraison,

production de graine...). En effet, les résultats obtenus en conditions *in vitro* des accessions de ricin au stade plantule est différente de celle obtenue au stade germination pour lequel les acc1, acc3 et acc7 ont été classées sensibles et l'acc4 tolérante au NaCl (Diallo *et al.*, 2013). Ces aptitudes différentielles à la tolérance au sel des végétaux aux stades germination et plantule ont été signalées chez *Eucalyptus gomphocephala* DC. (Ghrib *et al.*, 2011), *Triticosecale Wittm. ex A. Camus* (Norlyn et Epstein, 1984) et *Cucumis melo* L. (Botia *et al.*, 1998). En effet, il est rapporté par Maas et Poss, (1989) et par Maas et Grattan, (1999) que la plupart des plantes sont plus tolérantes au sel au stade germination qu'à l'émergence et aux premiers stades de la croissance. Gill *et al.* (2002) attribuent ce comportement à une accumulation par l'embryon de sucres solubles qui provoqueraient un ajustement osmotique qui est synonyme d'une adaptation au stress salin. Ce mécanisme de régulation engendrerait par la suite une réduction de la croissance au cours des stades ultérieurs de la germination (Patanè *et al.*, 2009).

## CONCLUSION

L'objectif principal de cette étude consistait à évaluer les réponses des accessions locales de ricin cultivées sous contrainte saline et à identifier des indicateurs pertinents permettant de les classer selon leur sensibilité vis-à-vis du chlorure de sodium.

De fortes corrélations ont été observées entre les concentrations croissantes de NaCl et les paramètres morpho-physiologiques mesurés. Les accessions de ricin ont montré une certaine variabilité dans leur réponse qui est fonction des teneurs en NaCl dans le milieu de culture.

Un seuil critique de NaCl 50 mM a permis de classer les accessions en groupe tolérant (acc1), moyennement tolérant (acc7) et sensible (acc3 et 4).

Les paramètres morphologiques utilisés se sont révélés être des indicateurs pertinents pour un criblage sous contrainte saline en conditions *in vitro*. Ces paramètres peuvent être recommandés à ce stade de développement pour une sélection rapide et à grande échelle de génotypes de ricin.

## REFERENCES

- Abdelly C. 1997. Mécanismes d'une association de luzernes spontanées et de halophytes pérennes en bordure de sebkha, thèse d'État, FST, université Tunis-2, (290 p.).
- Arnon D. L. 1949. A copper enzyme is isolated chloroplast polyphenol oxidase in Beta Vulgaris. *Plant Physiology*. 24 :1 - 15.
- Arzani A. 2008. Improving salinity tolerance in crop plants : a biotechnological view. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 44(5) : 373 - 383.
- Ben Khaled L., Gomez A. M., Honrubia M., Oihabi A. 2003. Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par Rhizobium, *Agronomie* 23 ; 553 - 560.
- Benmahioul B., Daguin F., Kaid-Harche M. 2009. Effet du stress salin sur la germination la croissance *in vitro* du pistachier (*Pistacia vera* L.). *Comptes Rendus Biologies*. Volume 332 ; (8) : 752 - 758.
- Borg P., Lê G., Lebrun S., Pées B. 2009. Example of industrial valorisation of derivative products of Castor oil. *Innovation-Technologie. Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Vol. 16 N° 4. pp 211 - 214
- Botia P., Carvagal M., Cerda A., Martinez V. 1998. Response of eight Cucumis melo cultivars to salinity during germination and early vegetative growth. *Agronomie* ; 18 : 503 - 13.
- Cramer G. R., Alberico G. J., Schmidt C. 1994. Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids. *Australian Journal of Plant Physiology*, 21 : 675 - 692.
- Diallo B., Samba A.N., Sané D., Diop T. 2013. Effet du chlorure de sodium sur la germination de graines de *Ricinus communis* L. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 7(4) : 1534 -1544.
- Epstein E., Norlyn J.D., Ruch D.W., Kingsbury R.W., Cunnigham A.F., Wrona A.F. 1980. Saline culture of crops: A genetic approach. *Science*, 210 : 399 - 404
- FAO online <http://faostat.fao.org>. 2006 (Accessed on 06 November 2007)
- Flowers T. J., Yeo A.R. 1981. Variability in the resistance of sodium chloride salinity within rice (*Oryza sativa* L.) varieties, *New Phytologist*. 88 ; 363 - 373.
- Ghrib C. D., Gharbi F., Rejeb S., Khoudja L., Rejeb M. N. 2011. Tolérance à la salinité de trois espèces d'Eucalyptus aux stades germinatif et plantule. *European Journal of Scientific Research*. Vol.50 No.2, pp. 208 - 217
- Gill P. K., Sharma A. D., Singh P., Bhullar S. S. 2003. «Changes in germination, growth and soluble sugar contents of *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds under various abiotic stresses», *Plant Growth Regulation* 40 (2), pp. 157 - 162.
- Greenway H., Munns R. 1980. Mechanism of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* 3 :149 -190.
- Hamrouni L., Abdallah F. B., Abdelly C., Ghorbel A. 2007. La culture *in vitro* : un moyen rapide et efficace pour sélectionner des génotypes de vigne tolérant la salinité. *Comptes Rendus Biologies* 331 : 152 -163.
- Institut Français des Huiles Végétales Pures (IFHVP). 2005. L'huile végétale pure Végétale®. Fiche énergie et environnement. pp 21.
- Ivan A. 1998. Chemical constituents, traditional and modern uses. In : Totowa, N. J. (Eds.), *Medicinal Plants of the World*. Ross Humana Press Inc., Pp. 375 - 395.
- Kingsbury R. W., Epstein E., Percy R.W. 1984. Physiological responses to salinity in selected lines of wheat. *Plant Physiology*., 74 : 417 - 423.
- Levigneron A., Lopez F., Varisuyt G., Berthomien P., Casse-Delbar T. 1995. Les plantes face au stress salin. *Cahier d'agriculture*. (4) : 263 - 273.
- M'Hamed H. C., Abdellaoui R., Kadri K., Naceur M. B., Hadj S. B. 2008. Evaluation de la tolérance au stress salin de quelques accessions d'orge (*Hordium vulgare* L.) cultivées en Tunisie : approche physiologique. *Sciences & Technologie C - N°28*. pp. 30 -37.
- Maas E. V., Grattan S. R. 1999. Crop yields as affected by salinity. In : Shaggs RW, Van Schilfgaarde J, eds. *Agricultural Drainage*. Agronomy Monograph 38. Madison (Wisconsin) : American Society of Agronomy (ASA).
- Maas E. V., Poss J. A. 1989. Salt sensitivity of wheat at various growth stages. *Irrigation Science* ; 10 : 29 - 40.
- Maas E. V. 1993. Salinity and citriculture. *Tree Physiology* ; 12 : 195 - 216.
- Makeen K., Babu G. S., Lavanya G. R., Abraham G. 2007. Studies of Chlorophyll Content by Different Methods in Black Gram (*Vigna*

- mungo L.). International Journal of Agricultural Research. Vol. 2 Issue 7, p 651
- Maroyi A. 2007. *Ricinus communis* L. In : van der Vossan, H. A. M. et MKamilo, G. S (Editeurs). Ressources végétales de l'Afrique tropicale 14. Oléagineux. [Traduction de : Plant Resources of Tropical Africa 14. Vegetable Oils. 2007]. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas / Backhuys Publishers, Leiden, Pays-Bas/ CTA, Wageningen, Pays-Bas. pp. 163 -170
- Morabito D., Mills D., Prat D., Dizengremel P. 1994. Response of clones of *Eucalyptus microtheca* to NaCl *in vitro*. Tree Physiology 14, 20 1-2 10
- Nielsen F., Hill B., de Jongh J. 2011. Castor (*Ricinus communis* L.). Potential of castor for bio-fuel production. FACT-Arrakis. FACT Foundation. FACT Project no : 146/WW/001. 15 p.
- Noble C. L., Rogers M. E. 1992. Arguments for the use of physiological criteria for improving the salt tolerance in crops, Plant Soil 146 : 99 -107.
- Norlyn J. B., Epstein E. 1984. Variability in salt tolerance of four triticale lines at germination and emergence. Crop Science ; 24 : 1090 - 2.
- Patanè C., Cavallaro V and Cosentino S. L. 2009. «Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures», Industrial Crops and Products, 30 (1), pp. 1 - 8.
- Pessaraki M. 1991. Formation of saline and sodic soils and their reclamation. Journal of Environmental Science and Health; A26: 1303-20
- Pina M., Severino L.S., Beltrão N., Villeneuve P., Lago R. 2005. De nouvelles voies de valorisation pour redynamiser la filière ricin au Brésil. Transformation et qualification des produits. Cahiers Agricultures, vol. 14, n° 1, pp 169 - 171
- Polvèche V. 1996. La culture du ricin en Europe. Ingénieries-EAT-n°6. pp 49 - 58
- Raghavaiah C. V., Lavanya C., Kumaran S., Royal T. J. 2006. Screening castor (*Ricinus communis*) genotypes for salinity tolerance in terms of germination, growth and plant ion composition. Indian Journal of Agricultural Sciences, 76(3) : 196 - 199.
- Rochdi A., Lemsellek J., Bousarhal A., Rachidai A. 2005. Evaluation sous serre de la tolérance à la salinité de quelques porte-greffes d'agrumes : *Citrus aurantium* et deux hybrides de *Poncirus trifoliata* (*Poncirus* × *Citrus sinensis* et *Poncirus* × *Mandarinier sunki*), Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. (1) 65 - 73.
- Rojas B. P., De H. A., Munoz J., Fernández M. J. M. 2004. Isolation of a natural mutant in castor (*Ricinus communis* L.) with high oleic/low ricinoleic acid content in the oil. Crop Science. 44 : 76 - 80.
- Shannon M. C., Noble C. L. 1995. Variation in salt tolerance and ion accumulation among subterranean clover cultivars, Crop Science. 35 ; 788 - 804.
- Tahri E. H., Belabed A., Sadki K. 1998. Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*). Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, 1997-1998, n°21, pp. 81 - 87.
- Tavallali V., Rahemi M., Panahi M. 2008. Calcium induces salinity tolerance in pistachio rootstocks, Fruits 63 : 285 - 296.
- Velasco L., Rojas B. P., Fernández M. J. M. 2005. Fatty acid and tocopherol accumulation in the seeds of a high oleic acid castor mutant. Industrial Crops and Products, 22 : 206.
- Weiss E. A., 2000. Oilseed Crops. London : Blackwell Science Ltd : 13 - 15.
- Xiong L., Zhu J. K. 2002. Salt tolerance, in : The Arabidopsis Book, American Society of Plant Biologists, pp. 1 - 22.
- Zhu J. K. 2001. Plant salt tolerance, Trends Plant Science. 6 : 66 - 71.