

Tolérance à la salinité d'une graminée à gazon: *Paspalum notatum* Flüggé

Nouha Doudech¹, M. Mhamdi^{2,3}, T. Bettaieb^{1,3*} & M. Denden¹

Keywords: *Paspalum notatum*- Salinity stress- Chlorophyllian fluorescence- Enzymatic activity- Tunisia

Résumé

Pour déterminer le seuil de tolérance à la salinité d'une graminée à gazon, *Paspalum notatum*, des boutures ont été irriguées par une eau chargée à différentes concentrations en NaCl. La capacité d'enracinement des boutures, la fluorescence chlorophyllienne et l'activité d'enzymes antioxydants, en l'occurrence, les catalases (CAT) et l'ascorbate peroxydase (APX) ont été mesurées pour évaluer la réaction au sel de cette plante. L'examen des résultats a montré qu'au-delà d'une application de 8 g.l⁻¹ de NaCl, la contrainte saline entraîne une baisse de la croissance des plantes qui se traduit par une diminution des biomasses racinaire et foliaire et une altération de l'intégrité fonctionnelle du photosystème II. Une évolution du contenu en H₂O₂ en association avec l'augmentation de la dose de NaCl a été mesurée. Au-dessous de la limite de 8 g.l⁻¹ de NaCl, les activités CAT et APX sont importantes et par conséquent le contenu en H₂O₂ est limité.

Summary

Salt Tolerance of Graminaceous Turfgrass: *Paspalum notatum* Flüggé

The main objective of this study is to determine turfgrass "*Paspalum notatum*" response to salinity. Cuttings of turfgrass were irrigated with water using different concentrations of NaCl. The effect of salinity was assessed on capacity of rooting, chlorophyllian fluorescence and antioxidant enzymes activities such as; catalases (CAT) and the ascorbate dismutase (APX). Results indicated that root and foliar biomass decreased significantly when NaCl concentration exceeded 8 g/l. This reduction of biomass is attributed to an alteration of the integrity of photosystem II. Moreover, H₂O₂ content was found to be positively associated with increased NaCl concentrations. When NaCl is below the critical threshold of 8 g/l, the CAT and APX activities are more pronounced and inhibiting H₂O₂ content within the tissue.

Introduction

Dans les régions semi-arides et arides caractérisées par une rhizosphère salinisée, l'installation de fortes doses de sel dans l'espace apoplasmique des végétaux est l'une des causes de l'endommagement des surfaces membranaires et de déshydratation cellulaire (13). En effet, les structures cellulaires sont menacées suite à la production des formes actives de l'oxygène (FAOx). Cependant, les cellules disposent d'un système antioxydant enzymatique et non enzymatique pour neutraliser ces radicaux libres. Mais, au-delà d'une certaine limite, le sel accélère la production des FAOx qui dépassent alors la capacité du système antioxydant des cellules. Chez les plantes supérieures trois enzymes majeures sont impliquées dans la détoxification des FAOx à savoir: la superoxyde dismutase (SOD), l'ascorbate peroxydase (APX) et les catalases (CAT) (12).

En Tunisie, la culture des graminées à gazon est aujourd'hui très utilisée pour les terrains de sports comme le football ou le golf. Ces cultures, menées sur des terrains étendus allant à des dizaines d'hectares pour un seul terrain de golf, demandent des quantités importantes d'eau d'irrigation qui n'est pas toujours de bonne qualité dans plusieurs régions où on cherche à implanter ce genre d'infrastructures sportives et touristiques. L'eau utilisée est souvent chargée en sels allant jusqu'à 3 et 4 g.l⁻¹. Dans ces conditions, le recours à des espèces tolérantes à des seuils élevés de salinité devient impératif pour garantir la bonne tenue du gazon. C'est ainsi que *Paspalum notatum*, qui est une graminée donnant un gazon dense pousse en zones de pluviométrie moyenne et à saison sèche longue, commence à s'imposer comme une graminée à gazon rustique et tolérante à la salinité (16).

L'objectif de ce travail est de déterminer le seuil de tolérance à la salinité de cette espèce par l'évaluation de

la réponse de boutures irriguées par une eau chargée à différentes concentrations en NaCl. Ainsi, la capacité des boutures de *Paspalum notatum* à émettre des racines, la fluorescence chlorophyllienne, l'activité de certaines enzymes antioxydantes (CAT et APX) et leur substrat (H₂O₂) ont constitué les paramètres utilisés pour évaluer les réactions de cette plante à la salinité.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué par des boutures de *Paspalum notatum*. Les boutures sont prélevées à partir des rhizomes. Chaque bouture, de 5 cm de longueur, comprend au moins 2 nœuds. La culture est réalisée en pots horticoles de 10 litres de volume sur un substrat composé de 1/2 sables, 1/4 terres végétales et 1/4 de marc de raisin. Le bouturage a été effectué à raison de 20 boutures par pot.

Conditions de culture

L'expérimentation est menée en conditions climatiques naturelles avec une température journalière variant entre 20 et 25 °C. L'irrigation est apportée à l'aide d'une eau chargée en NaCl à différentes concentrations soit: 0, 1, 2, 4, 8, 16 et 37 g.l⁻¹. La dernière concentration est similaire à celle de l'eau de la Méditerranée. Les irrigations sont effectuées à raison de 2 fois par semaine.

Observations réalisées

Caractérisation morphologique et physiologique

Après 5 semaines de culture, les observations ont porté sur le taux d'enracinement des boutures, le nombre, la longueur, la biomasse des racines et la matière fraîche foliaire.

¹Institut Supérieur Agronomique, 4042 Chott Mariem, Tunisie.

²Ecole Supérieure d'Agriculture du Kef, 7119 Boulifa Kef, Tunisie.

³Institut National Agronomique de Tunisie, 43 avenue Charles Nicoles, 1082 Tunis Mahragène, Tunisie.

*T. Bettaieb: Institut National Agronomique de Tunisie, 43 avenue Charles Nicoles, 1082 Tunis Mahragène, Tunisie Email: tbettaieb@yahoo.fr
Tél: 00216 23 206 614

Reçu le 20.09.07 et accepté pour publication le 11.12.07.

Pour évaluer l'intégrité fonctionnelle du photosystème II (PS II), des mesures de la fluorescence chlorophyllienne ont été faites après la reprise des boutures, sur des feuilles matures et saines, à l'aide d'un système rotatif: Fluorescence Induction Monitor (FIM 1500, Analytical Development Company Limited, ADC). L'analyse des mesures a porté sur la fluorescence initiale (F0), la fluorescence maximale (Fm), la fluorescence variable ($Fv = Fm - F0$). La période d'adaptation à l'obscurité et le niveau de la lumière saturante ont été déterminés avant d'effectuer les mesures. Une série de mesures du rapport Fv/Fm a été réalisée après des durées d'obscurité variables de 5 minutes d'intervalle. Cette période d'adaptation à l'obscurité a été évaluée à 20 min.

Caractérisation biochimique

Extraction de protéines, dosage de l'activité CAT, APX et du peroxyde d'hydrogène

L'extraction et le dosage des protéines totales solubles a été effectué selon la méthode de Bradford (3). L'activité CAT est dosée selon la méthode de Clairbone (4). L'activité APX est dosée selon la méthode de Nakano et Asada (8). L'activité ascorbate peroxydase est exprimée en μmol d'ascorbate $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines. Le protocole utilisé pour quantifier le peroxyde d'hydrogène dans les tissus végétaux est celui de Warm et Laties (14).

Protocole expérimental

L'essai a été conduit selon un dispositif expérimental en blocs complètement aléatoires avec trois répétitions. Le facteur de variation pour chaque essai correspond aux différentes concentrations en NaCl. Chaque unité expérimentale relative à un traitement dans un bloc a comporté 10 pots.

Résultats et discussion

Effets de NaCl sur l'enracinement

L'irrigation à l'eau chargée en NaCl affecte significativement l'enracinement des boutures de *Paspalum*. Le taux d'enracinement, le nombre moyen et la longueur moyenne des racines diminuent progressivement avec l'augmentation de la concentration en NaCl de l'eau d'irrigation (Tableau 1).

Le taux d'enracinement est de 100% lorsque l'eau contient au maximum 4 g.l^{-1} de NaCl. Le plus faible taux (42%) est enregistré à la dose de 37 g.l^{-1} . Des taux d'enracinement intermédiaires soit 74 et 65% sont obtenus respectivement en présence de 8 et 16 g.l^{-1} .

Le nombre moyen de racines formées par boutures varie d'une façon significative avec la concentration en NaCl de l'eau d'irrigation (Tableau 1). Le nombre de racines le plus élevé (seize) est observé chez le témoin et chez les boutures arrosées avec une eau de 1,2 ou 4 g.l^{-1} de NaCl. A 37 g.l^{-1} , le nombre de racines est limité (5,2 racines/bouture).

Concernant la longueur moyenne des racines, différents types de réactions ont été observés. La longueur la plus élevée (3,31) est obtenue chez le témoin. Pour le traitement à 1,2 et 4 g.l^{-1} de NaCl, la diminution n'est pas significative alors que pour le traitement à 8 g.l^{-1} , la diminution, quoique significative, n'est que de 30%. Les racines les plus courtes ont été obtenues au-delà 8 g.l^{-1} . La différence des longueurs moyennes des racines entre les différents traitements survient comme la résultante de l'effet de sel sur la croissance racinaire.

Les résultats obtenus attestent d'une bonne tolérance de *Paspalum notatum* au stress salin. En effet, une réduction de 50% d'enracinement par rapport au témoin n'est atteinte qu'en présence d'une eau où NaCl dépasse une concentration de 16 g.l^{-1} (Tableau 1). Une régression significative du nombre moyen et de la longueur moyenne des racines n'est observée qu'au-delà de 8 g.l^{-1} de NaCl. Ce même comportement a été signalé par Mallek-Maalej *et al.* (6) lors de l'étude de quelques variétés céréalières où un effet inhibiteur sur la longueur des racines en fonction de la concentration de l'eau d'irrigation en NaCl a été observé.

Effets de NaCl sur la production de matière fraîche

Pour la production de matière fraîche, les boutures enracinées de *Paspalum notatum*, suivant leurs caractéristiques adaptatives au stress salin, ont montré des réponses différentes au niveau l'apport de NaCl (Figure 1). D'une façon générale, le témoin et les plantules irriguées avec une eau chargée de 1, 2

Tableau 1
Effets de Na Cl sur l'enracinement des boutures de *Paspalum notatum*

Na Cl (g.l^{-1})	0	1	2	4	8	16	37
Taux d'enracinement (%)	100	100	100	100	74	65	42
Nombre moyen de racines	16,33 \pm 2,31 ^a	16,23 \pm 2,10 ^a	14,22 \pm 1,31 ^a	14,10 \pm 2 ^a	10,82 \pm 1,10 ^b	7,11 \pm 1,53 ^c	5,22 \pm 1,5 ^d
Longueur moyenne des racines (cm)	3,31 \pm 0,22 ^a	3,15 \pm 0,24 ^{ab}	3,14 \pm 0,2 ^{ab}	2,90 \pm 0,28 ^b	2,45 \pm 0,15 ^c	1,37 \pm 0,17 ^d	1,28 \pm 0,22 ^d

- Les moyennes, avec écarts types, de la même ligne suivie de la même lettre sont statistiquement équivalentes selon le test de la ppds au seuil de 5%.

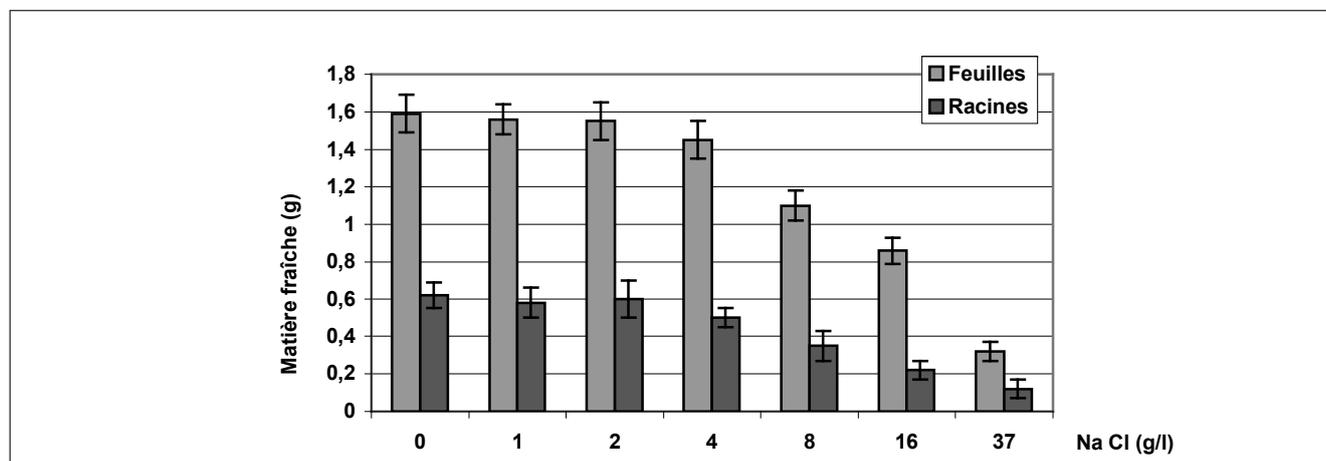


Figure 1: Effets de Na Cl sur la production de matière fraîche chez des boutures enracinées de *Paspalum notatum*.

Tableau 2
Effets de Na Cl sur la fluorescence chlorophyllienne

Na Cl (g.l ⁻¹)	0	1	2	4	8	16	37
F0	305 ± 22 ^a	310 ± 17 ^a	316 ± 19 ^a	334 ± 25 ^a	456 ± 23 ^b	555 ± 18 ^c	562 ± 26 ^c
Fv/Fm	0,82 ± 0,04 ^a	0,78 ± 0,05 ^a	0,79 ± 0,05 ^a	0,80 ± 0,04 ^a	0,73 ± 0,03 ^b	0,61 ± 0,05 ^c	0,63 ± 0,07 ^c

- Les moyennes, avec écarts types, de la même ligne suivie de la même lettre sont statistiquement équivalentes selon le test de la ppps au seuil de 5%.

ou 4 g.l⁻¹ de NaCl ont répondu par une production de matière fraîche très marquée par rapport aux autres traitements; les plantules traitées à 37 g.l⁻¹ NaCl ont montré une très faible production de matière fraîche; les traitements à 8 ou 16 g.l⁻¹, bien qu'avec une production significativement différente, occupent une position intermédiaire.

Dans le même sillage, Warne *et al.* (15) ont montré à cet égard que les signes de stress les plus évidents au niveau de la végétation arrosée par des eaux chargées en sel sont ceux d'une sécheresse physiologique se manifestant par un aspect général rabougri de la plante, par une diminution de la surface foliaire et de la masse racinaire et par un dessèchement partiel de la végétation. Dans la mesure où elle affecte la turgescence cellulaire, cette contrainte se répercute négativement sur la croissance. Le mécanisme de base qui mène au dessèchement des plantes exposées au sel est probablement lié à l'altération de l'activité de certaines enzymes comme la catalase, l'invertase, la superoxyde dismutase... Les enzymes associées aux membranes cellulaires sont plus affectées que les enzymes solubles, ce qui peut mener à des déséquilibres métaboliques. Les membranes cellulaires sont endommagées, ce qui cause une fuite de solutés des cellules. Les lipides des membranes cellulaires sont peroxydés par les radicaux libres qui s'accumulent en conditions de stress (1). Selon Smillie et Nott (11), la présence des sels solubles dans la solution du sol abaisse son potentiel osmotique et induit au niveau de la plante un état de «sécheresse» physiologique qui se traduit par une réduction de l'activité métabolique et une altération des pigments. La salinité diminue le potentiel osmotique de la solution du sol et réduit par conséquent l'absorption de l'eau par les racines; la turgescence cellulaire est abaissée, ce qui entraîne un phénomène de plasmolyse. Mais, certains végétaux sont capables d'ajuster plus ou moins rapidement leur potentiel osmotique à celui du milieu extérieur, de manière à maintenir le gradient de potentiel hydrique entre la plante et le milieu. Les ions chlorure et sodium peuvent être stockés chez les plantes dites inclusives, soit au contraire peu retenus et mobilisés par la sève phloémique jusqu'aux racines chez les plantes dites exclusives.

Effets du sel sur la fluorescence chlorophyllienne

Les mesures de la fluorescence chlorophyllienne montrent des réponses différentes des plantes de *Paspalum notatum* en fonction du niveau de la concentration de l'eau d'irrigation en NaCl (Tableau 2).

Les plantes irriguées par une eau chargée de 16 ou 37 g.l⁻¹ NaCl montrent une F0 plus élevée que celles traitées par une eau moins chargée en sel. Toutefois, les valeurs enregistrées chez le témoin et chez les plantules traitées

de faibles concentrations (1, 2 ou même 4 g.l⁻¹ de NaCl) sont nettement les moins élevées (Tableau 2). En effet, les mesures de la fluorescence chlorophyllienne permettent d'apprécier l'intégrité fonctionnelle du photosystème II (PS II). Sous l'effet du stress, l'état fonctionnel des membranes des thylakoïdes se dégrade, l'altération des processus photosynthétiques se reflète dans les courbes d'induction de la fluorescence de la chlorophylle (2). L'accroissement des valeurs de F0 chez les plantes soumises au stress salin se traduit par une réduction de la faculté de captage des électrons et de transfert d'énergie aux centres réactionnels et un début de dénaturation des accepteurs primaires de la photosynthèse

Le rapport Fv/Fm indicateur de l'efficacité photochimique du photosystème II est significativement différent en fonction des traitements (Tableau 2). Cependant, il demeure relativement stable (0,8) chez le témoin et les traitements à faibles doses de NaCl (1, 2 et 4 g.l⁻¹) mais il diminue brutalement chez les traitements à 16 et 37 g.l⁻¹ NaCl pour atteindre une valeur voisine de 0,6. Une régression moins importante de ce rapport a été observée chez le traitement à 8 g.l⁻¹ NaCl. Ces résultats montrent que les feuilles des plantes arrosées à l'eau chargée en sel sont sensibles au stress salin et présentent une altération de leurs processus photosynthétiques, contrairement aux feuilles des plantes traitées à des doses faibles, qui maintiennent des valeurs de Fv/Fm proches de 0,8. Cette valeur est habituellement rencontrée dans les conditions optimales de croissance en l'absence de toute contrainte environnementale (2). L'intensité de la fluorescence est inversement liée au rendement photochimique. En effet, lorsque l'émission d'électrons est perturbée, la chaîne de transport est détériorée par l'agent stressant comme NaCl, la dissipation d'énergie (chaleur et fluorescence) augmente. Cette relation peut être considérée comme un indicateur intrinsèque précis de la réaction claire de la photosynthèse au niveau du PSII. Selon Boubaqba (2), le rendement quantique des processus photochimiques exprimé par le rapport Fv/Fm montre une étroite relation avec la photosynthèse. Chez les plantes soumises à une contrainte du milieu, les faibles taux de photosynthèse nette sont associés à une fluorescence initiale (F0) élevée et un faible rapport Fv/Fm. L'accroissement des valeurs de F0 est la conséquence d'un faible transfert d'électrons photosynthétiques au complexe protéique QA-QB (plastiquinones) dans les chloroplastes et la proportion d'énergie d'excitation réémise comme fluorescence devient de plus en plus importante avec l'augmentation de l'intensité et de la durée du stress.

Tableau 3
Effets de Na Cl sur les activités catalase (CAT), ascorbate peroxydase (APX) exprimées en (µmol H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ de protéines) et le contenu en H₂O₂ en (µmol H₂O₂ g⁻¹ de matière fraîche) chez des boutures de *Paspalum notatum*

Na Cl (g.l ⁻¹)	0	1	2	4	8	16	37
Activité CAT (µmol H ₂ O ₂ min ⁻¹ mg ⁻¹ de protéines)	8,50 ± 0,7 ^c	11,15 ± 1 ^e	11,75 ± 1,2 ^e	10,05 ± 0,9 ^d	9,95 ± 0,9 ^c	5,61 ± 1,1 ^b	4,23 ± 0,8 ^a
Activité APX (µmol H ₂ O ₂ min ⁻¹ mg ⁻¹ de protéines)	823 ± 20 ^b	933 ± 24 ^c	1012 ± 30 ^e	995 ± 21 ^{de}	963 ± 19 ^d	237 ± 25 ^a	243 ± 23 ^a
H ₂ O ₂ (µmol H ₂ O ₂ g ⁻¹ de matière fraîche)	450 ± 15 ^a	489 ± 12 ^b	545 ± 20 ^c	548 ± 19 ^c	625 ± 14 ^d	838 ± 15 ^e	975 ± 18 ^f

- Les moyennes, avec écarts types, de la même ligne suivie de la même lettre sont statistiquement équivalentes selon le test de la ppps au seuil de 5%.

Effets de NaCl sur les activités catalase (CAT) et ascorbate peroxydase (APX)

Les résultats de caractérisation biochimique (Tableau 3) montrent des différences significatives dans les activités CAT, APX et le contenu en H₂O₂ entre le témoin et les traités au NaCl. A des doses croissantes de sel, jusqu'à une limite de 8 g.l⁻¹, une augmentation des activités CAT et APX a été mesurée.

Une évolution du contenu en H₂O₂ dans les tissus de la plante a été également observée et associée à l'augmentation de la dose de NaCl appliquée. Au-delà de 8 g.l⁻¹ de NaCl, une diminution des activités CAT et APX ont été mesurées et associées à une augmentation drastique du contenu en H₂O₂. En effet, au passage de la dose 2 à 4 g.l⁻¹ de NaCl, le contenu en H₂O₂ ne montre pas de différences significatives alors qu'entre 4 et 8 g.l⁻¹ une augmentation significative du contenu de ce substrat a été mesurée. L'ensemble de nos résultats et ceux d'autres travaux nous permettent d'attribuer un rôle à la CAT, à l'APX et au H₂O₂ dans les réactions de défenses aux stress environnementaux, en particulier la salinité. En effet, les travaux de Matsumura *et al.* (7), qui convergent avec nos résultats, observent chez le tabac une augmentation de l'activité CAT sous conditions de basses températures. Sairam et Srivastava (10) indiquent une augmentation du contenu en H₂O₂ et de l'activité CAT sous conditions de stress hydrique chez le blé. Fedina *et al.* (5) mesurent une forte augmentation du contenu en H₂O₂ chez des plantes d'orge cultivées sous conditions de stress salin. Chez la pomme de terre, Benavides *et al.*

(1) observent une augmentation du contenu en glutathion, forme réduite (GSH), chez des clones tolérant la salinité par rapport à d'autres sensibles. Il est à rappeler que le peroxyde d'hydrogène et les CAT interviennent dans le cycle du glutathion.

De l'ensemble de nos résultats et ceux d'autres travaux, on peut déduire et suggérer que l'amélioration de la tolérance aux contraintes abiotiques chez les plantes est attribuée à l'augmentation de leur capacité de détoxification des FAOx. En effet, le peroxyde d'hydrogène est indiqué comme molécule signal impliquée dans la régulation de l'expression de différents gènes. Radhika *et al.* (9) ont identifié 113 et 62 gènes qui sont respectivement induits ou réprimés en réponse au traitement de H₂O₂ chez *Arabidopsis*.

Conclusion

Il ressort des résultats rapportés que l'espèce *Paspalum notatum* est une espèce très tolérante à la salinité. Les signes de stress observés au niveau de la capacité des boutures de *Paspalum notatum* à émettre des racines et au niveau de la performance photosynthétique n'apparaissent que lorsque les boutures sont irriguées par une eau chargée se situant aux au-delà de 8 g.l⁻¹ de NaCl. Cependant, les activités métaboliques, malgré une régression remarquable, persistent même en présence de fortes doses de sel (16 et 37 g/l de NaCl).

Les activités CAT et APX augmentent jusqu'à une limite de 8 g.l⁻¹ de NaCl. Le contenu en H₂O₂ évolue avec l'augmentation de la dose de NaCl appliquée.

Références bibliographiques

- Benavides P.M., Marconi L.P., Gallego M.S., Comba E.M. & Tomaro L.M., 2000, Relationship between antioxidant defence systems and salt tolerance in *Solanum tuberosum*. *Aust. J. Plant Physiol.* 27, 273-278.
- Bounaqba S., 1998, Analyse des déterminants de la tolérance à NaCl chez le blé tendre, le triticale et l'orge. Utilisation de la fluorescence chlorophyllienne dans le diagnostic de l'état fonctionnel du photosystème II. Doctorat de Biologie, Faculté des Sciences de Tunis, Univ. Tunis II.
- Bradford M.M., 1976, A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Clairebone A., 1985, Catalase activity. In: Greenwald R.A. (ed) Handbook of methods for oxygen radical research, pp. 283-284. CRC Press, Boca Raton.
- Fedina I., Georgieva K., Velitchkova M. & Grigorova I., 2006, Effect of pre-treatment of barley seedlings with different salts on the level of UV-B induced and UV-B absorbing compounds. *Environ. Exp. Bot.* 56, 225-230.
- Mallek-Maalej E., Boulanem F. & Ben Salem M., 1998, Effet de la salinité sur la germination de graines de céréales cultivées en Tunisie. *Cahiers Agricoles*, 2, 153-156.
- Matsumura T., Tabayashi N., Kamagata Y., Souma C. & Saruyama H., 2002, Wheat catalase expressed in transgenic rice can improve tolerance against low temperature stress. *Physiologia Plantarum*, 116, 317-327.
- Nakano Y. & Asada K., 1981, Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell. Physiology*, 22, 867-880.
- Radhika D.S., Mackerness A.-H.-S., John T.H. & Steven J.N., 2001, Regulation of the *Arabidopsis* transcriptome by oxidative stress. *Plant Physiol.* 127, 159-172.
- Sairam R.K. & Srivastava G.C., 2001, Water stress of wheat (*Triticum aestivum* L.): variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. *J. Agronomy & Crop Science*, 186, 63-70.
- Smillie R.M. & Nott R., 1982, Salt tolerance in crop plants monitored by chlorophyll fluorescence *in vitro*. *Plant Physiol.* 72, 1043-1050.
- Scandalios J.G., 2002, The rise of ROS. *Trends in biochemical Sci.* 27, 483-486.
- Speer M. & Kaiser W.M., 1991, Ion relations of symplastic and apoplastic space in leaves from *Spinacia oleracea* L. and *Pisum sativum* L. under salinity. *Plant Physiol.* 97, 990-997.
- Warm E. & Laties G., 1982, Quantification of hydrogen peroxide in plant extracts by chemiluminescence reaction with luminol. *Phytochemistry*, 21, 4, 827-831.
- Warne P., Guy R.D., Rollins L. & Reid D.M., 1990, The effect of sodium sulphate and sodium chloride on growth, morphology, photosynthesis and water use efficiency of *Chenopodium rubrum*. *Can. J. Bot.* 68, 999-1006.
- Watson V.H. & Burton B.L., 1985, Bahia grass, carpet grass and dallies grass. Forages: the science of grassland agriculture. Iowa State University Press, Ames, IA. 225-270.

Nouha Doudech, Tunisienne, Ingénieur, Doctorante à l'Institut Supérieur Agronomique de Chott Mariem, Tunisie.

M. Mahmoud, Tunisien, Titulaire d'un Doctorat en Sciences Agronomiques de la Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux, Belgique. Maître assistant à l'Ecole Supérieure d'agriculture du Kef, Tunisie.

T. Bettaieb, Tunisien, Titulaire d'un Doctorat en Sciences Agronomiques de l'Institut National Agronomique de Tunisie. Maître de conférences à l'Institut Supérieur Agronomique de Chott Mariem, Tunisie.

M. Denden, Tunisien, Titulaire d'un Doctorat en Sciences Agronomiques et Biologiques appliquées de Gand, Belgique. Maître de conférences à l'Institut Supérieur Agronomique de Chott Mariem, Tunisie.