

What is the response of barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*) to metallic trace elements (zinc, copper and cadmium)?

Quelle est la réponse de l'orge (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*) face aux éléments traces métalliques, zinc, cuivre et cadmium?

O. AYED SLAMA *¹, I. BOUHAOUEL¹, S. NAOUAR¹, H. SLIM AMARA¹

¹ University of Carthage, National Agronomic Institute of Tunisia, Department of Agronomy and Plant Biotechnology, Genetics and Cereal Breeding Laboratory, 43 Charles Nicolle Street, 1082 - Tunis Mahragene, Tunisia.

*Corresponding author: olfayed@yahoo.fr

Abstract – Soil pollution by metallic trace elements (MTE) requires an assessment of the risk of toxic effects in the most consumed plant species, in particular barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*). This study aimed to assess the toxic effect of three MTE, zinc (Zn), copper (Cu) and cadmium (Cd) on the growth of two barley varieties cultivated in hydroponics, Rihane and Manel, and their accumulation potentials of these pollutants. After 14 days of culture, barley seedling growth, estimated by leaf and root length and fresh and dry weight, was reduced (25.25, 7.70, 78.56 and 66.47%, respectively). Toxic effects were more pronounced on fresh and dry biomass compared to the leaf and root length. Cu and Cd were the most toxic elements. However, the tested MTE have slightly reduced the relative water content in both varieties. Taking into account these morphological and physiological parameters, Manel was more sensitive to these elements than Rihane. The accumulation of trace metals in these plants increased according to their contents in nutrient solutions and followed the decreasing order Cu > Zn > Cd. Under these conditions, Manel accumulated a little more MTE (BCF = 1.61) than Rihane (BCF = 1.46) but the difference was not significant between these two varieties. Taken together, these results suggest that Manel is less recommended for MTE-contaminated areas.

Keywords: Metallic trace elements, *Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*, hydroponics, cadmium, copper, zinc.

Résumé - La pollution des sols par les éléments traces métalliques (ETM) demande une évaluation du risque des effets toxiques chez les espèces végétales les plus consommées, notamment l'orge (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*). Cette étude a pour objectif d'évaluer en hydroponie l'effet toxique de trois ETM, zinc (Zn), cuivre (Cu) et cadmium (Cd) sur la croissance de deux variétés d'orge, Rihane et Manel. Après 14 jours de culture, la croissance des plantules d'orge, estimée par la longueur des feuilles et des racines et les poids frais et sec, a été réduite (25,25, 7,70, 78,56 et 66,47%, respectivement). Les effets de toxicité ont été plus marqués sur la biomasse fraîche et sèche par rapport à la longueur des feuilles et des racines. Le Cu et le Cd ont été les éléments les plus toxiques. Toutefois, les ETM testés ont réduit légèrement la teneur relative en eau chez les deux variétés. En tenant compte de ces paramètres morphologiques et physiologiques, Manel a été plus sensible à ces éléments que Rihane. L'accumulation des ETM dans ces plantes a augmenté en fonction de leurs teneurs dans les solutions nutritives et a suivi l'ordre décroissant suivant Cu > Zn > Cd. Lors de cet essai, Manel a accumulé un peu plus d'ETM (BCF = 1,61) que la variété Rihane (BCF = 1,46) mais la différence n'était pas significative entre ces deux variétés. L'ensemble de ces résultats ont permis de suggérer que la variété Manel est moins recommandée pour les zones contaminées par les ETM.

Mots clés : Eléments traces métalliques, *Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*, hydroponie, cadmium, cuivre, zinc.

1. Introduction

Le problème des sols contaminés est un fardeau environnemental qui touche plusieurs pays. Il résulte entre autres des processus d'industrialisation et d'urbanisation intenses, durant le dernier siècle, qui ont considérablement accru la libération d'une diversité de substances organiques et inorganiques dans l'environnement (Chevrier 2013). En outre, la forte production agricole a favorisé de nouveaux procédés, notamment l'usage accru d'engrais et de pesticides, les épandages d'effluents d'élevage, les lisiers et les boues d'épuration qui représentent également les principales sources de pollution des terres agricoles (Gharbi et al. 2009). Parmi ces substances polluantes, il y a les éléments traces métalliques (ETM). Ces molécules inorganiques sont de nature non biodégradable et par conséquent leur concentration augmente d'une manière considérable dans les sols et les nappes phréatiques. Comme dans la plupart des pays ayant des climats arides à semi-arides, les ressources hydriques en Tunisie sont limitées alors que les besoins sont en constante augmentation. D'où le recours à l'irrigation par les eaux usées traitées choisie comme une stratégie nationale afin de faire face à la sécheresse (ONAS 2010). En effet, ces eaux sont utilisées dans divers secteurs à savoir l'irrigation des espaces verts, des terrains de golf et des cultures telles que les cultures fourragères. Bien que les ETM des eaux usées traitées soient relativement faibles, l'irrigation par ces eaux à moyen et à long terme peut entraîner l'accumulation de ces éléments dans le sol (Rattan et al. 2005). En effet, l'étude de l'impact de l'irrigation par les eaux usées traitées pendant 15 ans sur un sol de la région El Hajeb-Sfax a montré son enrichissement par les ETM tels que le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le zinc (Zn) et le fer (Fe) (Belaid 2010). Par ailleurs, le sol du district de Jebel Hallouf Sidi Bouaouane, une zone minière Pb-Zn abandonnée depuis 1986 et située dans le Nord-Ouest de la Tunisie, a été également analysé (Chakroun et al. 2010). Des millions de tonnes de rejets miniers ont été versés sur le côté de Jebel Hallouf, situé dans le bassin versant de Wadi Kasseb, un affluent de la rivière Mejerda qui constitue une importante réserve d'eau pour les habitants du Nord. Chakroun et al. (2010) ont montré que les couches superficielles de cette zone minière de Jebel Hallouf Sidi Bouaouane étaient fortement contaminées par le Pb, le Cd et le Zn, particulièrement pendant les inondations ou dans les zones soumises au vent. Les plantes d'orge (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare* L.) et de fève (*Vicia faba* L.) collectées au niveau de ce site ont été contaminées dans leurs parties aériennes et racinaires par ces métaux traces.

Le Zn est présent en quantités excessives dans plusieurs sites pollués en Tunisie, notamment dans les sites miniers abandonnés (Babbou et al. 2011), les sites industriels à proximité d'un dépôt atmosphérique excessif, les sites où le fumier des volailles et les boues d'épuration sont appliqués (Alloway 2008) et sur quelques périmètres irrigués par les eaux usées (Klay et al. 2010). Ce dernier type de contamination est souvent accompagné d'une contamination par le cadmium (Cd) en raison de la relation géochimique étroite entre ces deux éléments (Alloway 1995). Le Cd provient également de différentes sources, à savoir de l'altération de la roche mère, du dépôt atmosphérique et des apports anthropiques notamment les engrais qui sont beaucoup plus importants (Alloway 1995). En effet, une étude effectuée par Béjaoui et al. (2016) sur le potentiel de contamination des sols et des plantes par le Cd émis par les engrais phosphatés de l'industrie tunisienne ont montré que la teneur moyenne en Cd était supérieure aux normes internationales relatives aux sols agricoles. Toutefois, les épandages agricoles sont les principales sources de contamination des sols en Cu (Marschner 1995).

La forte pollution des sols ou des eaux par les ETM, notamment le zinc (Zn), le cuivre (Cu) et le cadmium (Cd) peut présenter des dangers pour l'équilibre écologique en provoquant un dysfonctionnement de l'écosystème et des risques environnementaux et sanitaires majeurs et peuvent être impliqués dans de nombreuses pathologies. En effet, ces métaux toxiques peuvent intégrer la chaîne trophique par l'intermédiaire des plantes d'orge et peuvent causer des problèmes de santé animale et humaine en raison de leur importante consommation (Zayed et al. 2003; Kuo et al. 2006). A titre d'exemple, le Cd peut provoquer un dysfonctionnement rénal, une hypertension artérielle, une perturbation des organes reproducteurs, un dysfonctionnement du foie, une perturbation de la fonction pulmonaire et une augmentation du risque de cancer du poumon (Bernard 2008).

Nombreuses espèces végétales peuvent être atteintes par la pollution métallique, notamment les espèces céréalières. Aniol et Gustafon (1984) ont montré que les différentes céréales ne réagissent pas de la même façon aux ETM. Ces deux auteurs ont classé, en 1984, le seigle comme la céréale la plus tolérante à l'aluminium, le blé présentant une tolérance intermédiaire et l'orge comme la plus sensible. L'orge (*H. vulgare* L. ssp. *vulgare*) étant la deuxième céréale cultivée en Tunisie a été choisie durant cette étude. Cette espèce est cultivée dans toutes les régions du Nord au Sud et valorise particulièrement les

zones arides et semi-arides (El Felah et Medimagh 2005). Elle est majoritairement utilisée pour l'alimentation animale (85%) en tant que fourrage vert, ensilage et grains en mélange avec des aliments concentrés, et secondairement pour l'alimentation humaine (15%).

Très peu d'études se sont intéressées à l'évaluation de l'effet des ETM sur l'orge très consommée en Tunisie. Il est donc important de mieux connaître les effets de ces polluants sur cette espèce afin d'évaluer sa réponse au stress métallique. Ce travail se focalise sur (i) la comparaison du comportement précoce en hydroponie de deux variétés d'orge les plus cultivées en Tunisie, Rihane et Manel, en milieux contaminés par les ETM (ii) l'évaluation du potentiel d'accumulation de ces éléments afin de voir celle qui présente le moins de risque pour la chaîne alimentaire.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de deux variétés améliorées d'orge (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*), Rihane et Manel. Ces deux variétés sont les plus cultivées en Tunisie et couvrent 60% des emblavures d'orge (El Gharbi et El Felah 2013). Les semences issues de la récolte 2016-2017 ont été fournies par l'Institut National de Recherche Agronomique de Tunis.

2.2. Culture hydroponique

2.2.1. Mise en germination

Les grains d'orge (Rihane et Manel) ont été trempés dans une solution d'hypochlorite de sodium 12% pendant 15 min suivi de 3 rinçages successifs de 5 min chacun à l'eau distillée stérile. Après désinfection, les grains ont été disposés (200 grains/bac) dans des bacs opaques (1,5 l) tapissés de sept couches de papier absorbant et surmontés d'une feuille de papier filtre imbibée d'eau distillée. Ces bacs ont été ensuite placés dans une chambre de culture à l'obscurité à une température moyenne de 25°C pendant 7 jours. Un apport journalier en eau distillée a été réalisé durant cette phase de germination.

2.2.2. Installation et conduite de l'essai

Après sept jours, au stade une feuille, les plantules d'orge ont été transférées dans des bacs opaques (1,5 l) contenant une solution nutritive de Hoagland (Gulick et Dvorak 1987) additionné de 5 ml de FeEDTA et le pH a été ajusté à 5,7 à l'aide des solutions de NaOH ou HCl à 0,1 N (Tableau 1). Cette solution a été renouvelée une fois par semaine et oxygénée par des pompes d'aération. Chaque bac a été subdivisé en deux: une première moitié a été réservée aux plantules de Rihane, tandis que la deuxième moitié a été réservée aux plantules de Manel. Au total, 18 plantules de chaque variété ont été repiquées par bac. Les métaux traces (Zn, Cu et Cd) ont été appliqués séparément dans les solutions nutritives à deux concentrations différentes (0,5 et 1 mM). Les solutions ne contenant pas ces éléments sont considérées comme témoins. La culture a été installée dans une chambre de culture à une température de 25±1°C, une photopériode de 16 h de lumière et une intensité lumineuse de 6000 lux pour une durée totale de 7 jours. Le dispositif expérimental a été conçu en blocs aléatoires complets avec trois répétitions par traitement.

Tableau 1. Composition de la solution nutritive de Hoagland (Gulick et Dvorak 1987).

Eléments	Quantité (mg l ⁻¹)
Macroéléments	
KNO ₃	3030
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1300
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1230
NH ₄ H ₂ PO ₄	1150
Microéléments	
KCl	168
H ₃ BO ₃	77,3
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	29
CuSO ₄ ·5H ₂ O	6
H ₂ MoO ₄ ·H ₂ O	36

2.3. Paramètres mesurés

2.3.1. Paramètres morphologiques

La mesure de la longueur des feuilles et des racines (cm) a été faite après 3, 6 et 14 jours de l'application du stress métallique. Après 14 jours de culture, le poids frais (g) des plantules collectées a été également pesé. Par la suite, la matière sèche de ces plantules a été déterminée par dessiccation en l'étuve à 70°C pendant 48 h. Les pourcentages de réduction des paramètres morphologiques ont été calculés comme suit :

$$[(\text{Témoin} - \text{Traitement}) / \text{Témoin} \times 100].$$

2.3.2. La teneur relative en eau

La teneur relative en eau TRE a été déterminée comme suit :

$$\text{TRE} = [(\text{MF} - \text{MS}) / \text{MF}] \times 100$$

Avec MF (g) est la matière fraîche et MS (g) est la matière sèche.

2.3.3. Dosage des éléments traces métalliques présents dans les plantules d'orge

A la fin de la culture hydroponique, les plantules ont été prélevées afin de déterminer la teneur en métaux, Zn, Cu et Cd. Les plantes ont été préalablement séchées à l'étuve à 40°C jusqu'à l'évaporation de l'eau. Ces plantules ont été ensuite broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre dont la granulométrie est très fine (< 200µm). Ce broyage a été suivi d'un tamisage (200µm). Les échantillons obtenus ont été mis dans des capsules en polyéthylène auxquels on a ajouté 2 ml de l'acide nitrique et 6 ml de l'acide chlorhydrique pour la minéralisation qui avait lieu dans l'étuve à 80°C pendant une heure. Le dosage des métaux a été réalisé par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (ICP-OES). Pour pouvoir déterminer les concentrations des ETM des différents échantillons, un blanc et une solution étalon multiéléments (cadmium, cobalt, cuivre, plomb, manganèse, nickel, zinc, et chrome) ont été utilisés. Le facteur de bioaccumulation (BCF) des ETM, qui exprime la capacité des plantes à extraire les métaux traces à partir de son support de culture, a été calculé selon la formule :

$$\text{BCF} = C_{\text{plt}} / C_{\text{sol}}$$

Avec C_{plt} (mg kg⁻¹) est la concentration du métal chez les plantules d'orge et C_{s} (mg kg⁻¹) est la concentration du métal dans la solution nutritive. Selon Baker (1981), si le BCF < 1 l'espèce étudiée est exclusive d'ETM, si le BCF = 1 l'espèce est indicatrice, alors que si le BCF > 1 l'espèce est un accumulatrice.

2.4. Analyse statistique

Toutes les données expérimentales ont été soumises à une analyse de la variance (ANOVA) en utilisant le logiciel SPSS 20 (IBM SPSS Statistics 20). Les moyennes ont été comparées selon le test de la plus petite différence significative (PPDS) à un niveau de probabilité de 5%.

3. Résultats et discussion

3.1. Paramètres morphologiques

L'analyse de la variance a montré que l'élongation des feuilles diffère d'une façon significative ($P < 0,01$) en fonction des variétés d'orge testées (Var), du traitement appliqué (Trt), de la concentration (Conc) des métaux traces appliqués et de la date de détermination de ce paramètre (D). Des interactions doubles (Var × D, Trt × D) et triples (Var × Trt × D) ont été obtenues ($P < 0,001$) au cours de cette analyse. Toutefois, l'interaction entre les quatre facteurs n'était pas significative.

Dans la plupart des cas, la présence du métal a réduit la croissance aérienne des plantules d'orge des variétés Manel et Rihane, à l'exception du zinc après 3 et 6 jours de culture (Figures 1, 2). En général, l'effet du Cu (34,14%) a été plus prononcé suivi par celui du Cd (27,92%) et du Zn (13,69%). En tenant compte des variétés d'orge, la variété Manel a montré un pourcentage de réduction des feuilles de 27,43% contre 23,07% pour Rihane. Manel semble être une variété plus sensible aux ETM. L'effet d'inhibition de la croissance a été plus élevé avec une concentration de 1 mM (27,27%) par rapport au 0,5 mM (23,23%). Cet effet a été également plus important au cours du temps. En effet, au bout de 14 jours ces éléments ont réduit de 35,76% la croissance des feuilles, alors qu'elle a été réduite de

16,66% à 3 jours de culture. L'effet des métaux traces semblent inclure également quelques symptômes de dépérissement foliaire, notamment des chloroses, des nécroses ainsi que l'enroulement des feuilles.

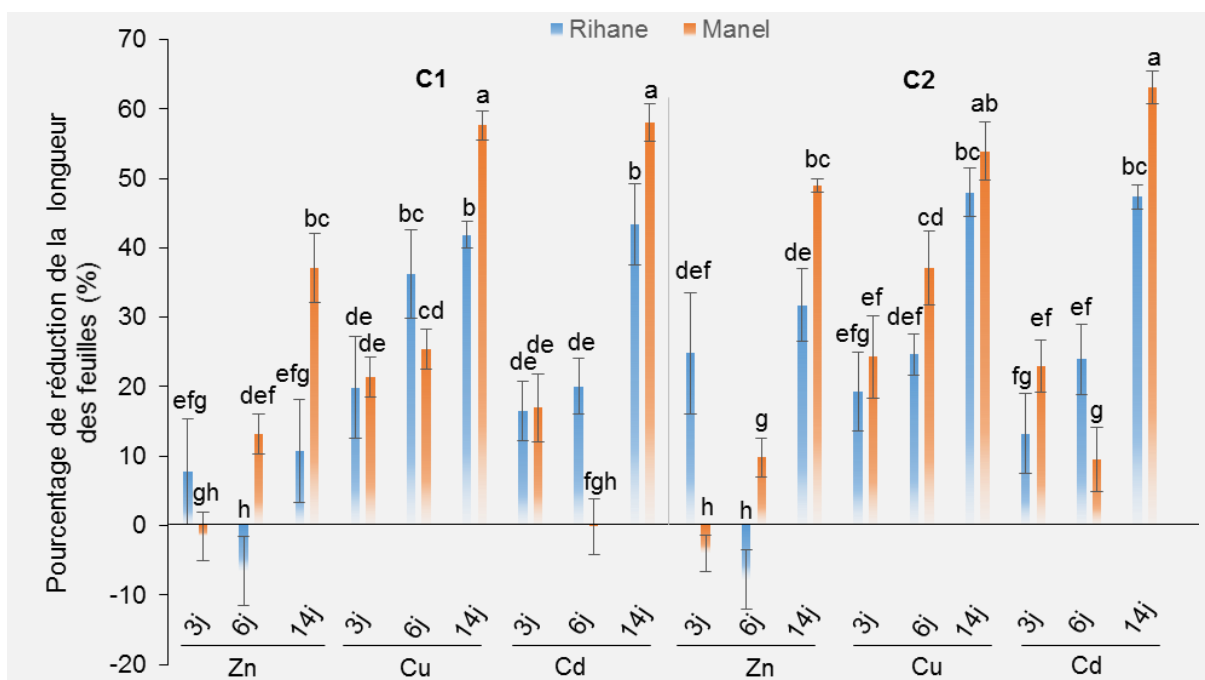


Figure 1. Taux de réduction (%) de la longueur des feuilles des deux variétés d'orge déterminés après 3, 6 et 14 jours de culture, suite à un traitement par les éléments traces métalliques, zinc (Zn), cuivre (Cu) et cadmium (Cd) appliqués à deux concentrations différentes (C1: 0,5 mM, C2: 1 mM). Etant donné que l'interaction entre les quatre facteurs est non significative, l'analyse des groupes a été effectuée selon les variétés, le traitement et la date pour chaque concentration. Les barres verticales indiquent les erreurs standards des moyennes et les différentes lettres indiquent une différence significative à $P < 0,05$ (Test de PPDS).

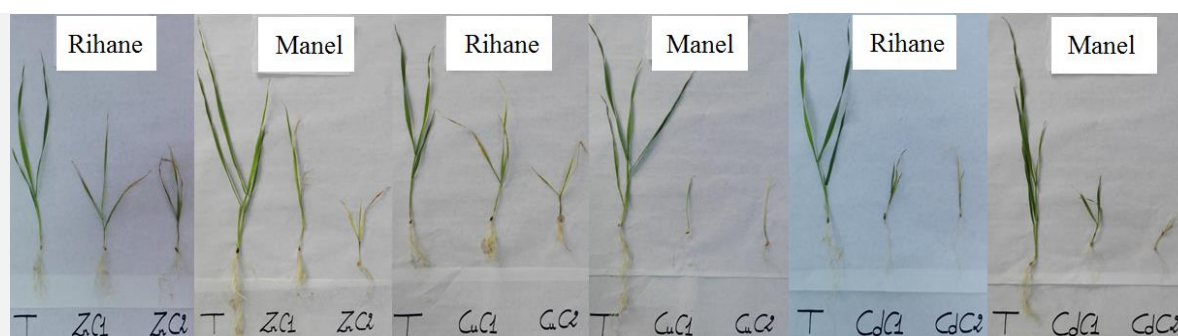


Figure 2. Effet des différentes concentrations de zinc (Zn), cuivre (Cu) et cadmium (Cd) sur la croissance de deux variétés d'orge, Rihane et Manel.

L'élargissement des racines de l'orge cultivée en hydroponie dans des solutions nutritives contaminées par le Zn, Cu et Cd diffère significativement en fonction des variétés testées (Var) et de la date (D) de détermination de ce paramètre ($P < 0,01$). Toutefois, des résultats non significatifs ont été enregistrés pour le traitement (Trt) et la concentration des ETM appliqués. Par ailleurs, des interactions doubles (Var \times Trt, Var \times Conc, Var \times D, Trt \times D) et triple (Var \times Trt \times D) ont été obtenues ($P < 0,05$) contrairement à l'interaction entre les quatre facteurs qui n'était pas significative. En général, la présence du métal dans le milieu de culture a permis de réduire la croissance racinaire des plantules d'orge (Figures 2, 3). Cependant, aucun effet de toxicité n'a été observé pour la variété Manel en présence du Zn après 3 (1 mM) et 6 jours (0,5 et 1 mM) et du Cu (0,5 mM) après 3 jours suite à une augmentation de la longueur des racines. Des résultats similaires ont été obtenus pour la variété Rihane en présence du Cu après 3 jours (0,5 mM) et du Cd après 3 (0,5 et 1 mM) et 14 jours (0,5 mM) de culture. La réduction de la longueur moyenne des racines a été légèrement plus importante chez les plantes traitées

par le Cd (9,98%) suivi par le Cu (7,51%) et le Zn (5,62%). Contrairement aux résultats obtenus pour la partie aérienne, le taux de réduction de la longueur des racines a été légèrement plus marqué avec une concentration de 0,5 mM (9,92%) par rapport à 1 mM (5,48%). La croissance racinaire a été dépendante de la période de traitement par les ETM. Après 3 jours de culture, l'addition des ETM a induit une stimulation de croissance par rapport au témoin de 3,67%. Toutefois, une réduction de croissance de l'ordre de 9,47% et de 11,68% a été respectivement observée au 6^{ème} et au 14^{ème} jour. Pour ce paramètre, la variété Manel a montré plus de sensibilité aux ETM (12,75%) comparativement à Rihane (2,65%).

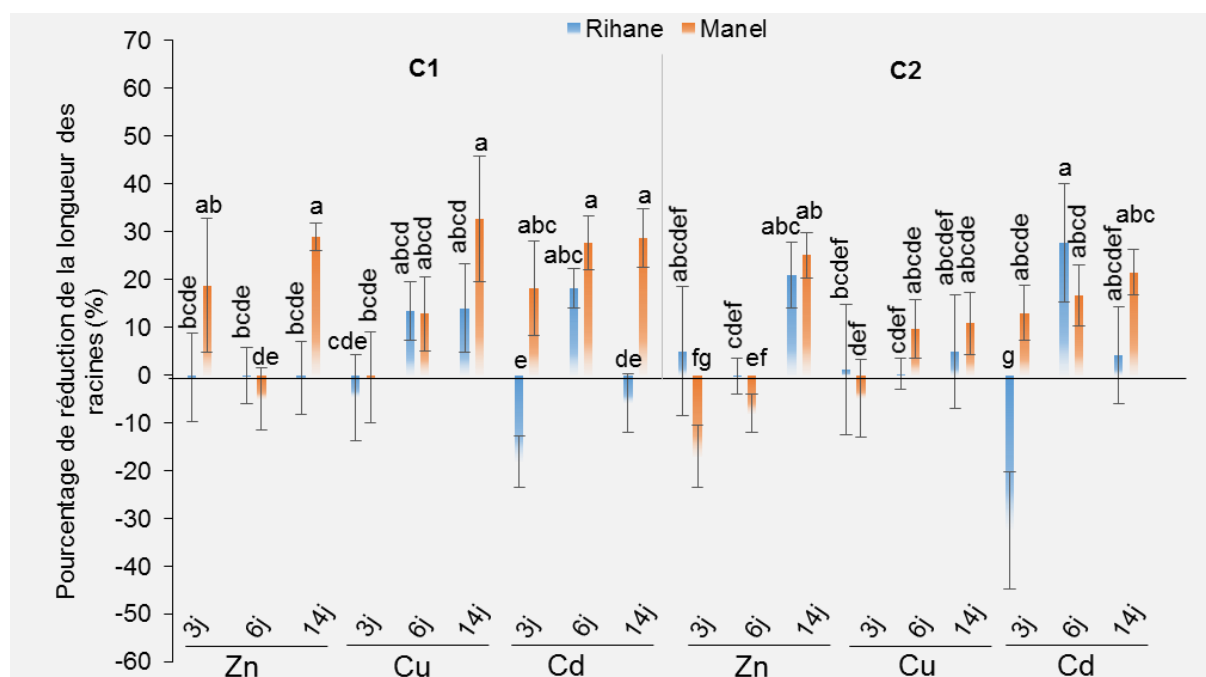
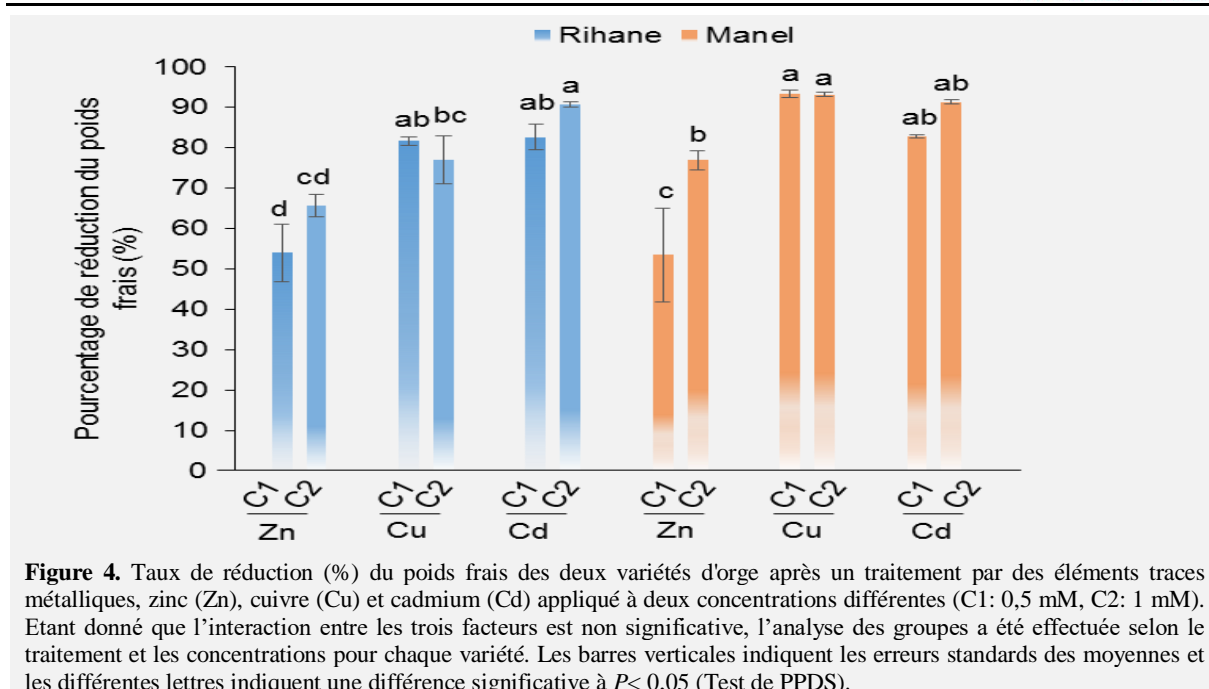


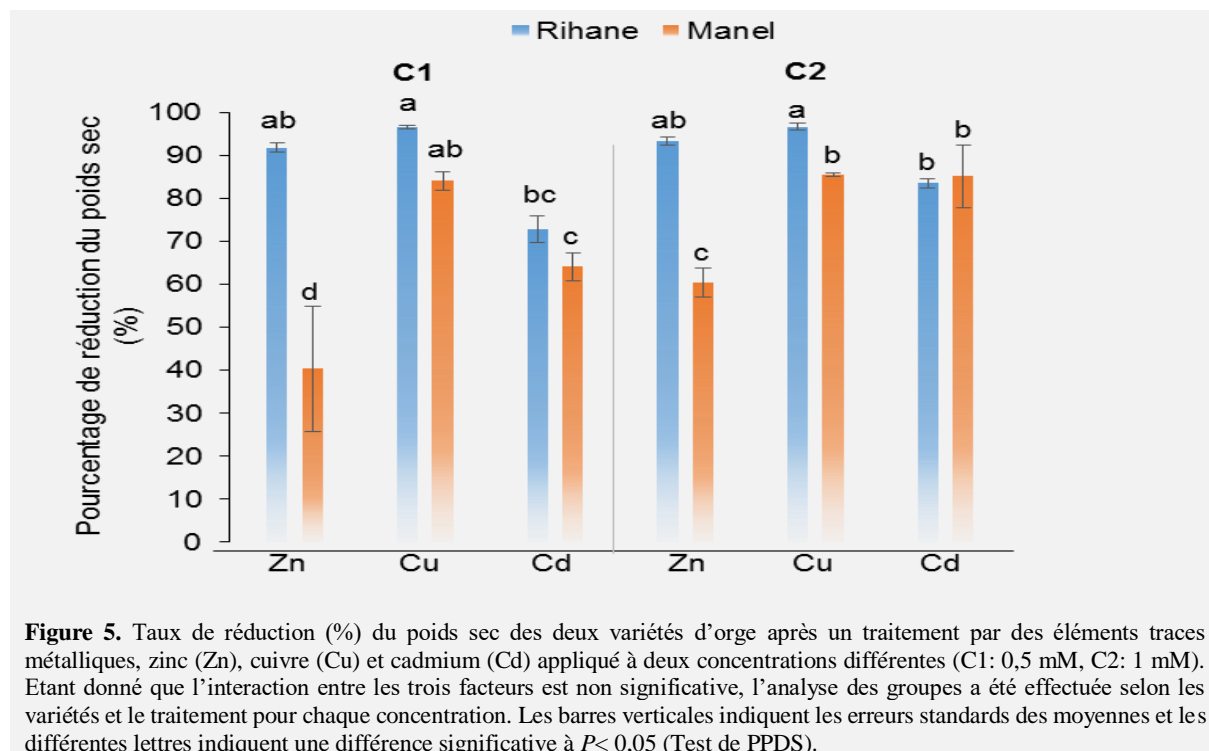
Figure 3. Taux de réduction (%) de la longueur des racines des deux variétés d'orge déterminés après 3, 6 et 14 jours de culture, suite à un traitement par les éléments traces métalliques, zinc (Zn), cuivre (Cu) et cadmium (Cd) appliqués à deux concentrations différentes (C1: 0,5 mM, C2: 1 mM). Étant donné que l'interaction entre les quatre facteurs est non significative, l'analyse des groupes a été effectuée selon les variétés, le traitement et la date pour chaque concentration. Les barres verticales indiquent les erreurs standards des moyennes et les différentes lettres indiquent une différence significative à $P < 0,05$ (Test de PPDS).

Des différences significatives ($P < 0,01$) du poids frais des plantules traitées ont été également notées en fonction des variétés étudiées (Var), des traitements (Trt) et des concentrations (Conc) appliqués. Cette analyse a permis de mettre en évidence la présence d'une interaction double significative (Trt \times Conc; $P < 0,05$) et l'absence d'une interaction significative entre les trois facteurs.

Le poids frais a été plus affecté par le Cd (86,86%) suivi par le Cu (86,30%) et le Zn (62,55%) avec des taux de réduction plus importants à la concentration de 1 mM (82,44%) par rapport à celle de 0,5 mM (74,40%) (Figures 2, 4). Dans nos conditions de culture, le poids frais des plantules de Manel a été plus affecté par les ETM (81,91%) par rapport à ceux de la variété Rihane (75,22%).



Le poids sec a été affecté significativement ($P < 0,01$) par les variétés testées (Var), le traitement appliqué (Trt) et la concentration du métal utilisé (Conc). Cette analyse a montré également l'existence d'une interaction double (Var \times Trt; $P < 0,001$) et l'absence d'une interaction significative triple entre les différents facteurs. L'addition du Cu au milieu de culture a induit la réduction la plus importante de la biomasse sèche (77,96%) suivie par celles du Cd (76,63%) et du Zn (60,90%) (Figure 5). Cet effet a été proportionnel à la concentration appliquée des ETM. Les résultats obtenus à ce niveau confirment la sensibilité de la variété Manel (70,51%) au stress métallique par rapport à Rihane (62,43%).



Dans l'ensemble, la survie de toutes les plantes d'orge indique que cette espèce tolère la culture hydroponique en présence du stress métallique. L'inhibition de la croissance des plantules traitées, estimée par la longueur des parties aériennes et racinaires ainsi que la biomasse fraîche et sèche, peut

être considérée comme une réponse générale associée à l'effet stressant et toxique des métaux traces. Comme rapporté par Yruela (2009), la caractérisation initiale de la toxicité des ETM, notamment le Cu commence par l'inhibition de l'élongation et de la croissance des racines. Les symptômes subséquents comprennent la chlorose, la nécrose et la décoloration des feuilles. Les résultats obtenus durant cette étude ont montré que l'effet de toxicité, d'une part, a été plus marqué pour la croissance des feuilles comparativement à celle des racines, et d'autre part, plus prononcé sur la biomasse fraîche et sèche comparativement à la longueur des feuilles et des racines. Dans le même sens, Sharma et al. (2010) ont trouvé une corrélation négative entre l'élongation des racines et des pousses des épinards (*Spinacia oleracea* L.) avec l'augmentation des niveaux de Cu, qui était associée à une dépression notable du poids frais des plantules.

Durant cet essai, le Cu et le Cd ont été les éléments les plus toxiques. Le Cu est un oligo-élément indispensable à la vie, présent en proportion très faible dans les tissus biologiques (Loué 1993). Toutefois, des symptômes de phytotoxicité à cet élément peuvent apparaître lorsque sa teneur dépasse un certain seuil variable selon l'espèce végétale (Marschner 1995). Par ailleurs, il est important de signaler que le Cd est un élément non essentiel pour les plantes, potentiellement toxique même à des faibles concentrations (Gill et Tuteja 2011). Ces résultats confirment ceux obtenus dans des études antérieures montrant que le Cd affecte beaucoup plus la croissance des racines comparée à celle des feuilles (Ouzounidou et al. 1997; Vitoria et al. 2001).

En comparant les deux variétés indépendamment des traitements appliquées, Manel s'est montrée comme la variété la plus sensible aux ETM et ceci pour tous les paramètres de croissance mesurés. Une étude réalisée par Sgahier et al. (2008) sur l'effet du Cd sur les mêmes variétés d'orge au stade de germination a révélé une inhibition de la croissance racinaire à partir d'une concentration de 10 μ M. Toutefois, cet aspect a été plus marqué chez Rihane comparativement à Manel. Ceci peut être attribué à la concentration appliquée, au stade de développement de la plante ou encore à la spécificité de chaque technique de culture utilisée.

3.2. La teneur relative en eau

Les analyses effectuées ont révélé des réductions significatives de la teneur relative en eau ($P < 0,05$) selon les variétés (Var) et le traitement (TRT). Toutefois, quelques interactions significatives ont été notées entre les différents facteurs, notamment celle de Var \times Trt et Trt \times Conc ($P < 0,05$). D'après les valeurs obtenues (Figure 6), les deux variétés cultivées en hydroponie régulent mieux leur perte en eau en présence du Zn (6,59%) suivie par le Cd (9,76%) qu'en présence du Cu (11,08%) avec une plus grande efficacité pour Rihane (8,13%) que Manel (10,15%). Une légère différence a été toutefois observée entre les deux concentrations. Comme démontré dans plusieurs études l'excès des ions métalliques comme le Cd, le Ni et le Zn peut affecter la teneur en eau dans les différents organes de la plante. En effet, ces ions toxiques peuvent affecter l'absorption d'eau à partir du sol et diminuer à son tour la teneur en eau au niveau des racines (Rucińska-Sobkowiak 2016). Les deux variétés d'orge ont gardé en moyenne une TRE de 81% en présence des ETM. Cette teneur en eau relativement élevée, indique que l'orge est une plante bien hydratée. Le maintien d'un potentiel hydrique élevé est généralement lié à l'aptitude à extraire l'eau du sol et à la capacité à limiter les pertes d'eau par transpiration. Des mécanismes spécifiques peuvent être aussi adoptés selon l'espèce en présence de métaux bien particuliers pour maintenir l'équilibre de l'eau chez la plante (Rucińska-Sobkowiak 2016). En effet, cette légère diminution de la TRE qui n'a pas dépassé dans la majorité des cas les 10% pourrait être liée à une grande capacité d'ajustement osmotique. Dans ce sens, Przymusiński et Woźny (1985) et Gzyl et al. (1997) ont montré que le Pb a permis d'augmenter le degré de vacuolisation des cellules méristématiques et du parenchyme cortical des racines de *Lupinus luteus*. La vacuolisation induite par le Pb chez cette espèce a été corrélée avec des valeurs élevées de TRE, suggérant ainsi que l'eau pourrait être stockée dans les vacuoles en réponse au stress métallique (Rucińska-Sobkowiak et al. 2013). Toutefois, il est important de noter qu'une diminution de la TRE, pourrait affecter plus tard la croissance d'une part et le développement d'autre part, et peut intervenir dans la détermination du rendement en biomasse et en grains (Radhouane 2008) chez l'orge.

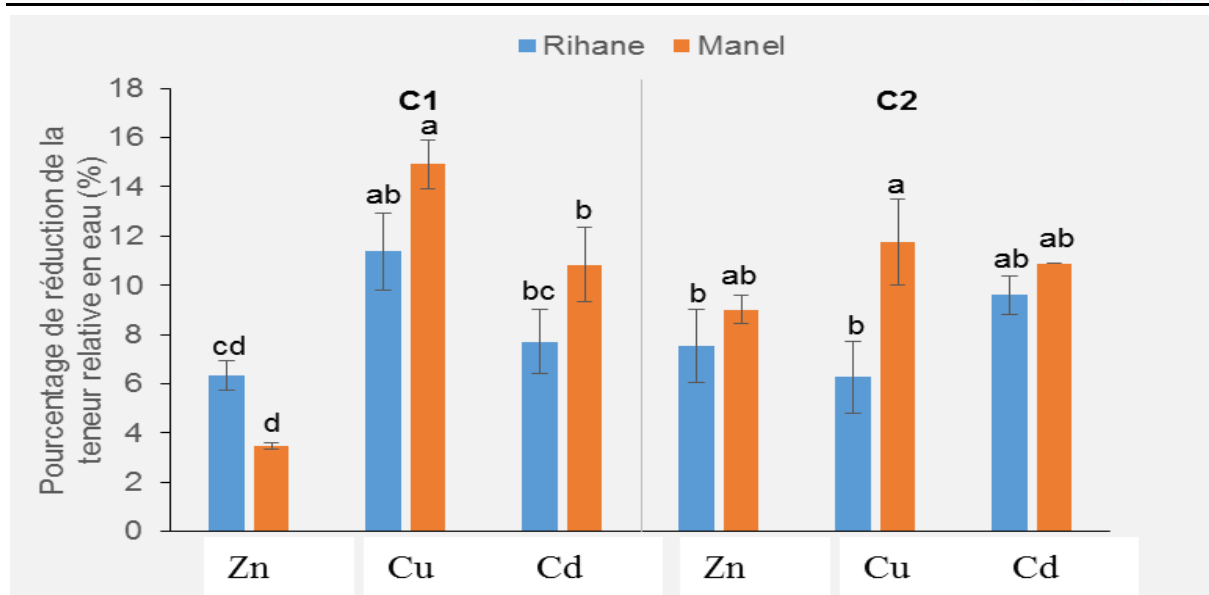


Figure 6. Taux de réduction (%) de la teneur relative en eau des deux variétés d'orge après un traitement par des éléments traces métalliques, zinc (Zn), cuivre (Cu) et cadmium (Cd) appliqué à deux concentrations différentes (C1: 0,5 mM, C2: 1 mM). Etant donné que l'interaction entre les trois facteurs est non significative, l'analyse des groupes a été effectuée selon les variétés et le traitement pour chaque concentration. Les barres verticales indiquent les erreurs standards des moyennes et les différentes lettres indiquent une différence significative à $P < 0,05$ (Test de PPDS).

3.3. Extraction des éléments traces métalliques (Zn, Cu et Cd) à partir des plantes d'orge

L'analyse de la variance du potentiel d'absorption et d'accumulation des ETM de deux variétés d'orge a montré qu'aucune différence significative ($P > 0,05$) n'a été détectée pour le facteur de bioaccumulation (BFC) des ETM selon les variétés, les traitements ainsi que les concentrations appliquées. En outre, aucune interaction entre les différents facteurs n'a été enregistrée.

Bien que les teneurs en ETM soient accumulés chez les plantules d'orge de manière similaire quelque soit la variété, ces éléments ont augmenté en fonction de la concentration additionnée dans le milieu ($1,76 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$ à 0,5 mM, $3,51 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$ à 1 mM) (Figure 7). L'accumulation de ces éléments dépendait également du métal additionné. Toutefois, le BCF n'a pas évolué selon les concentrations appliquées (1,54 à 0,5 mM, 1,52 à 1 mM; Tableau 2). En effet, ce facteur qui est un indicateur quantitatif de la contamination des plantes par les ETM a été réduit légèrement chez les deux variétés d'orge testées en appliquant une concentration de 1 mM de Zn et de Cd. Dans ces conditions d'essai, le Cd est l'ETM le moins absorbé par les plantes d'orge qui ont présenté le BCF le plus faible (0,93) suivi par le Zn (1,82) et le Cu (1,84). Les résultats indiquent que les deux variétés d'orge sont accumulatrices d'ETM ($\text{BCF} > 1$), notamment le Zn et le Cu. Ces éléments stockés au niveau de la plante peuvent par la suite contaminer toute la chaîne alimentaire. Toutefois, ces deux variétés semblent adopter un mécanisme d'exclusion pour le Cd ($\text{BCF} < 1$). La variété Manel (1,61) a été légèrement plus contaminée par les ETM que la variété Rihane (1,46). Plus précisément, Manel a accumulé plus de Zn et de Cd dans ces tissus que Rihane ce qui pourrait expliquer sa sensibilité aux ETM. Il est bien connu que le Zn et le Cd sont très mobiles et facilement absorbés par les plantes (Ahumada et al. 1999; Hatira 2004), mais la différence observée au niveau du potentiel d'accumulation de ces métaux traces entre les deux variétés d'orge étudiée suggère une sélectivité d'absorption de ces ETM. Des travaux ultérieurs seront toutefois recommandés pour confirmer cette hypothèse en utilisant un plus grand nombre de génotypes d'orge dans des stades de développement plus avancés. En effet, il peut y avoir eu une inhibition par les ions Cd, du fonctionnement des transporteurs spécifiques du Cu. Comme suggéré par Brunet (2008), certains cations toxiques notamment le Cd semble être un compétiteur connu du calcium en empruntant les canaux calciques membranaires de l'espèce *Lathyrus sativus* L.

Des résultats controversés ont été obtenus Chakroun et al. (2010) qui ont rapporté que l'orge collectée dans le district minier a été fortement contaminée par le Pb et le Cd et, dans une moindre mesure, par le Zn et le Cu. Ceci pourrait être attribué à plusieurs facteurs, notamment les variétés testées ou encore le pH du sol qui influence largement le transfert du Cd et du Pd du sol vers la plante. Il a été même démontré

que les pH élevés peuvent réduire la biodisponibilité et la toxicité du Cd et du Pb (McBride et al. 1997; Gray et al. 1999).

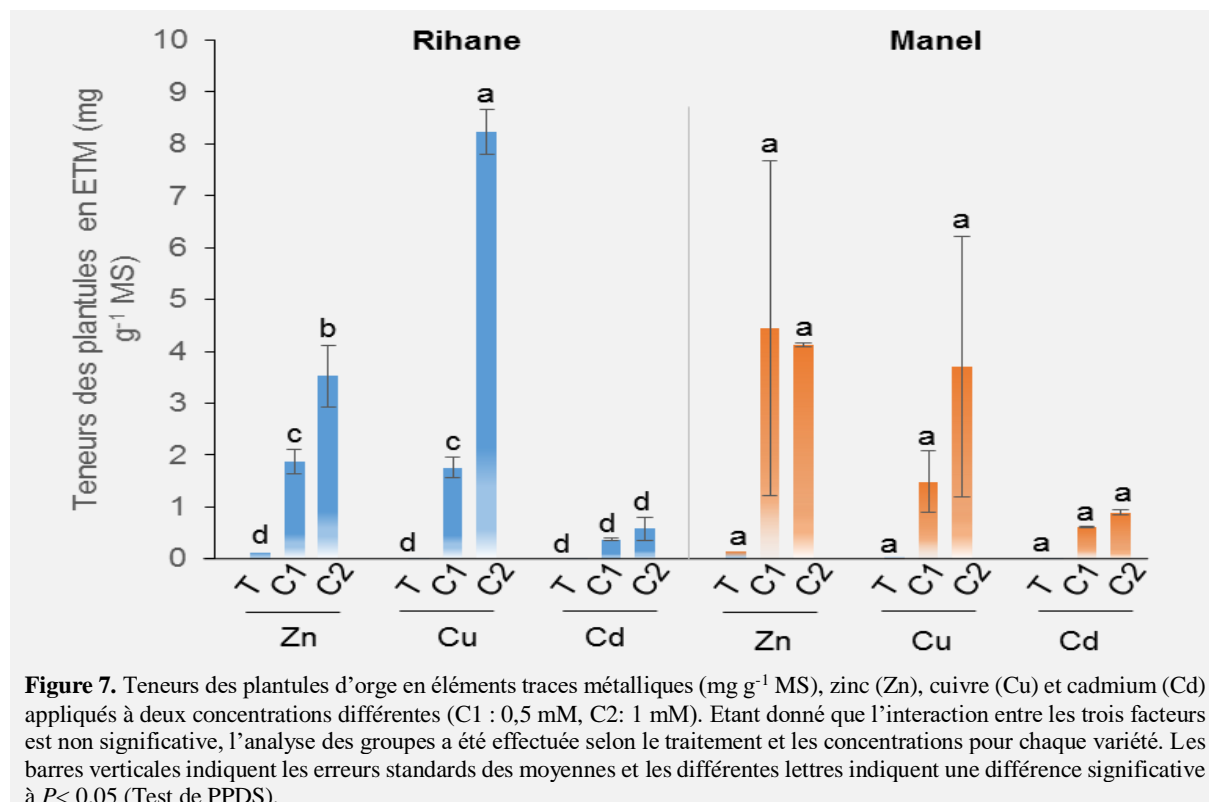


Figure 7. Teneurs des plantules d’orge en éléments traces métalliques ($\text{mg g}^{-1} \text{MS}$), zinc (Zn), cuivre (Cu) et cadmium (Cd) appliqués à deux concentrations différentes (C1 : 0,5 mM, C2: 1 mM). Etant donné que l’interaction entre les trois facteurs est non significative, l’analyse de groupes a été effectuée selon le traitement et les concentrations pour chaque variété. Les barres verticales indiquent les erreurs standards des moyennes et les différentes lettres indiquent une différence significative à $P < 0,05$ (Test de PPDS).

Tableau 2. Facteur de bioaccumulation (BCF) chez les deux variétés d’orge cultivées en hydroponie et traitées par les éléments traces métalliques, zinc (Zn), cuivre (Cu) et cadmium (Cd) appliqués à deux concentrations différentes (C1: 0,5 mM, C2: 1 mM). Les différentes lettres indiquent une différence significative à $P < 0,05$ (Test de PPDS).

Traitement	Zn		Cu		Cd		Total
	C1	C2	C1	C2	C1	C2	
BCF – Rihane	1,35±0,16 ^a	1,27±0,22 ^a	1,40±0,16 ^a	3,29±0,18 ^a	0,81±0,05 ^b	0,63±0,24 ^a	1,45
BCF – Manel	3,2±2,33 ^a	1,48±0,01 ^a	1,19±0,47 ^a	1,48±1,01 ^a	1,31±0,02 ^a	0,98±0,05 ^a	1,61

4. Conclusion

L’essai de la culture hydroponique, portant sur les paramètres morphologiques a permis de montrer l’effet négatif des ETM, en particulier celui du Cu et du Cd sur la croissance des plantules. Toutefois, le stress métallique a légèrement affecté le statut hydrique des plantes. Les deux variétés étudiées ont présenté un facteur de bioaccumulation > 1 , ce qui indique qu’il y a de grandes chances de contamination de l’orge par les ETM et un risque de contamination animale ou humaine. Manel a été la variété la plus sensible aux ETM et semble présenter un peu plus de risque pour le consommateur que Rihane.

Remerciements

Cette étude a été financée par le Laboratoire de Génétique et Amélioration des Céréales. Nous tenons à remercier le Centre International des Technologies de l’Environnement de Tunis (CITET) pour les analyses effectuées.

5. Références

- Ahumada I, Mendoza J, Navarette E, Ascar L (1999)** Sequential extraction of heavy metals in soils irrigated with waster water. *Commu Soil Sci Plant Anal* 30:1507–1519
- Alloway BJ (1995)** Soil processes and the behavior of metals. In: Alloway BJ (ed) *Heavy metals in soils*, Blackie Academic & Professional, London, pp 38–57
- Alloway BJ (2008)** *Zinc in soils and crop nutrition 2nd edition*. IZA and IFA Publishers, Brussels

- Aniol A, Gustafon JP (1984)** Chromosome location of genes controlling aluminum tolerance in wheat, rye and triticale. *Con J Gen Cy Tol* 26:701–705
- Babbou C, Sebai A, Chaabani F (2011)** Incurred environmental risks and potential contamination sources in an abandoned mine site. *Afr J Environ Sci Technol* 5:894–915
- Baker AJM (1981)** Accumulators and excluders. *J Plant Nutr* 3:643–654
- Béjaoui I, Kolsi-Benzina N, Bel Hadj M (2016)** Cadmium contamination of local soils and vegetal in a Tunisian phosphate plant environment. *JNS* 26:1445–1453
- Belaid N (2010)** Evaluation des impacts de l'irrigation par les eaux usées traitées sur les plantes et les sols du périmètre irrigué d'El Hajeb-Sfax: salinisation, accumulation et phytoabsorption des éléments métalliques. Mémoire de thèse, Université de Sfax et Université de Limoges
- Bernard A (2008)** Cadmium & its adverse effects on human health. *Indian J Med Res* 128:557–564
- Brunet J (2008)** Adaptation aux métaux lourds d'une Fabacée (légumineuse): Réponses phénologique et moléculaire au plomb du *Lathyrus sativus* L. Thèse de Doctorat, Université Paris-Est
- Chakroun HK, Souissi F, Bouchardon JL, Souissi R, Moutte J, Faure O, Remon E, Abdeljaoued S (2010)** Transfer and accumulation of lead, zinc, cadmium and copper in plants growing in abandoned mining-district area. *Afr J Environ Sci Technol* 4:651–659
- Chevrier E (2013)** La phytoremédiation, une solution d'avenir pour le Québec. Thèse de Doctorat, Université de Sherbrooke
- El Felah M, Medimagh S (2005)**. Food barley in Tunisia. In: Grando S, Gomez MH (eds.) Food barley: Importance, uses and local knowledge, International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, pp 29–35
- El Gharbi MS, El Felah M (2013)** Les céréales en Tunisie: plus d'un siècle de recherche variétale. *Annales de l'INRAT* 86:45–68
- Gharbi F, Sellami R, Zaïer H, Kchaou R, Smaoui A, Rejeb S, Rejeb MN, Hanchi B (2009)** Utilisation des plantes hyperaccumulatrices pour la dépollution des sols pollués par les métaux lourds. Actes des Journées Scientifiques de l'INRGREF 14:215–224
- Gill SS, Tuteja N (2011)** Cadmium stress tolerance in crop. *Plant Signal Behav* 6:215–222
- Gray CW, McLaren RG, Roberts AHC, Condon LM (1999)** Cadmium phytoavailability in some New Zealand soils. *New Zeal J Crop Hort* 27:169–179
- Gulick P, Dvorak J (1987)** Gene induction and repression by salt treatment in root of the salinity sensitive Chinese spring wheat and the salinity tolerant chinese spring × *Elutrgia elongata* amphiploid. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 99–103
- Gzyl J, Przymusiński R, Woźny A (1997)** Organospecific reactions of yellow lupin seedlings to lead. *Acta Soc Bot Pol* 66:61–66
- Hatira A (2004)** Impact des rejets de la laverie de phosphate sur la distribution des métaux lourds à l'interface sol/plante. Rapport d'Habilitation Universitaire, Faculté des Sciences de Tunis
- Klay S, Abdelkrim C, Ayed L, Houman B, Rezgui F (2010)** Effect of irrigation with treated wastewater on geochemical properties (saltness, C, N and heavy metals) of isohumic soils (Zaouit Sousse perimeter, Oriental Tunisia). *Desalination* 253:180–187
- Kuo CY, Wong RH, Lin JY, Lai JC, Lee H (2006)** Accumulation of chromium and nickel metals in lung tumors from lung cancer patients in Taiwan. *J Toxicol Environ Health A* 69:1337–1344
- Loué A (1993)** Oligo-éléments en agriculture. Société commerciale des potasses et de l'azote, Paris
- Marshner H (1995)** Mineral Nutrition of higher Plants, 2nd ed. Academic Press, London
- McBride M, Sauve S, Hendershot W (1997)** Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. *Eur J Soil Sci* 48:337–346
- ONAS (2010)** Office National de l'assainissement, Rapport annuel. [http:// www.onas.nat.tn /Fr/index.php?code=3](http://www.onas.nat.tn/Fr/index.php?code=3). Consulté le 10 juillet 2018
- Ouzounidou G, Moustakas M, Eleftheriou EP (1997)** Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Arch Environ Con Tox* 32:154–160
- Przymusiński R, Woźny A (1985)** The reactions of lupin roots on the presence of lead in the medium. *Biochem Physiol Pflanz* 180:309–318
- Radhouane L (2008)** Caractéristiques hydriques du mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) en présence de contraintes hydriques. *C R Biol* 331:206–214

- Rattan RK, Datta SP, Chhonkar PK, Suribabu K, Singh AK (2005)** Long-term impact of irrigation with sewage effluents on heavy metal content in soils, crops and groundwater—a case study. *Agric Ecosyst Environ* 109:310–322
- Rucińska-Sobkowiak R (2016)** Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiol Plant* 38:257
- Rucińska-Sobkowiak R, Nowaczyk G, Krzesłowska M, Rabęda I, Jurga S (2013)** Water status and water diffusion transport in lupine roots exposed to lead. *Environ Exp Bot* 87:100–109
- Sgahier S, Nasraoui-Hajjaji A, Naffouti C, Ben Kaâb-Bettaïeb L (2008)** Comparative effects of cadmium on some metabolic changes during the germination of barley grains. In: Ceccarelli S, Grandi S (eds.) *Proceedings of the 10th International Barley Genetics Symposium*. ICARDA, Alexandria, pp 236–240
- Sharma RK, Devi S, dan Dhyan PP (2010)** Comparative assessment of the toxic effects of copper and cypermethrin using seeds of *Spinacia Oleracea* L. plants. *Trop Ecol* 51:375–387
- Vitoria AP, Lea PJ, Azevedo RA (2001)** Antioxydant enzymes responses to cadmium in radish tissues. *Phytochemistry* 57:701–710
- Yruela I (2009)** Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Funct Plant Biol* 36:409–430
- Zayed AM, Terry N (2003)** Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. *Plant Soil* 249:139–156