REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master Spécialité : Protection de l'environnement

Thème

Effets de deux espèces de légumineuses (Fève et Haricot) sur les propriétés physico-chimiques et biologiques de sols contaminés par le pétrole brut.

Présenté par : MEKERRI Karima

TAZEBOUDJT Amira

Devant le jury composé de :

M^{me} LANDRI G. Présidente

M^{me} ALI AHMED SADOUDI D. Promotrice

M^{me} CHIBANE G. Co-Promotrice

M^{lle} ALI AHMED S. Examinatrice

REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur Mme SADOUDI-ALI AHMED Djamila., professeur à l'UMMTO, pour les connaissances qu'elle n'a cessé de nous prodiguer, de la confiance qu'elle nous a témoigné et pour avoir guidé et orienter tout au long de notre travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

- Mme LANDRI Ghenima notre présidente qui nous a fait l'honneur d'examiné ce travail.
- Melle ALI AHMED Samira., Maître assistance A à l'UMMTO, pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.
- Mme CHIBANE Gouraya, notre Co-promotrice et doctorante à l'UMMTO, qui nous a orientées pour réaliser ce travail et pour sa grande patience et surtout sa disponibilité et ces conseils avisés.

Ces remerciements vont aussi au corps professoral et administratif de la Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

mon adorable **Père** qui sacrifia tout ce qu'il a de cher pour me prodiguer une éducation, un soutien, une assistance et un encouragement pour en fin aboutir à terminer ce modeste travail.

A ma chère **Mère** qui ne ménagea aucun effort pour venir spontanément à mon aide, m'encourager par sa présence permanente à mes côtés, ce qui a incontestablement renforcé ma détermination à atteindre mon objectif, en occurrence être biologiste.

A mes chers grands parents.

A ma chère grande soeur **Sabrina** et son mari **Mohamed** ont commencé le chemin de réussite dans notre famille.

A ma tante Nadia qui ma protégée avec son amour depuis ma naissance.

A ma soeur **Wissam**, mon amie pour la vie, et mes cousines, **Ines, Faima, Nouara, Sarra** et **Romayssa.**

A mes princesses : Meriem, Maram, Sofia et Ghaniya.

A mon prince: Aymane.

A toute ma famille. Mes oncles, Mes tantes.

A ma source d'énergie, le groupe insuline : **Wissam, Lydia, Lyna, Sonia, Hakim,**Saïd, youva, Tour et Malik.

A mes deux jumelles adorables Fadila et Saliha.

A la fin à ma collègue **Amira**. Telles sont mes dédicaces à l'occasion de la présentation de cet humble travail.

MEKERRI Karima.

Liste des abréviations

CE Conductivité électrique

CT Calcaire total

HC Hydrocarbure

Htr P Hauteur des plantes

MO Matière organique

Nbr F Nombre de feuille

S Semaine

SC Sol contaminé

SCC F Sol contaminé cultivé par la fève

SCC H Sol contaminé cultivé par le haricot

SCC Sol contaminé cultivé

SNC Sol non contaminé

SNCC Sol non contaminé cultivé

SNCC F Sol non contaminé cultivé par la fève

SNCC H Sol non contaminé cultivé par le haricot

N Nombre des microorganismes en UFC/ml

n Nombre des colonies dénombrées

v Volume prélevé (0.1ml)

d Dilution

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page	
Tableau I	Echelle granulométrique de texture de sol	04	
Tableau II	Tableau II Les types de pores		
Tableau III	Classification générale des hydrocarbures	07	
Tableau IV	Analyse de la variance de la hauteur des deux espèces	32	
Tableau V	Analyse de la variance du nombre de feuilles des deux espèces	34	
Tableau VI	Analyse de la variance de la biomasse aérienne des deux espèces	36	
Tableau VII	Analyse de la variance de la biomasse racinaire des deux espèces	38	
Tableau VIII	Analyse de la variance pour le pH des sols cultivés	40	
Tableau IX	Analyse de la variance pour le calcaire total des sols cultivés	41	
Tableau X	Analyse de la variance pour la conductivité électrique des sols cultivés	41	
Tableau XI	Analyse de la variance pour la matière organique des sols cultivés	43	
Tableau XII	Dénombrement des colonies dans le sol témoin	44	
Tableau XIII	Dénombrement de la microflore dans le sol non contaminé cultivé	44	
Tableau XIV	Dénombrement de la microflore dans le sol contaminé et cultivé	45	

Liste des figures

Figure	Titre	Page		
Figure 01	Les différents types de phytoremédiation	15		
Figure 02	Processus de la phytostabilisation des contaminants au niveau de sol	16		
Figure 03	Processus de phytoextraction, absorptions des contaminants présents dans le sol	17		
Figure 04	Phytodégradation des contaminants organiques	18		
Figure 05	Test de germination pour les deux espèces	24		
Figure 06	Schéma explicatif de dénombrement et l'ensemencement des microorganismes présents dans le sol	30		
Figure 07	Hauteur moyenne des plantes du haricot et de la fève cultivés dans les sols contaminé et non contaminé	31		
Figure 08	La hauteur de la partie aérienne de deux espèces	33		
Figure 09	gure 09 Nombre moyen des feuilles de deux espèces (haricot et fève) cultivés dans les sols contaminé et non contaminé			
Figure 10	La biomasse aérienne moyenne des deux espèces			
Figure 11	La biomasse racinaire moyenne des deux espèces (haricot et fève) cultivés dans les sols contaminé et non contaminé	37		
Figure 12	La racine de la fève non contaminée après le rinçage	38		
Figure 13	pH du sol cultivé par les deux espèces et du sol témoin	39		
Figure 14	Taux du calcaire total des sols cultivés par les deux espèces et du sol témoin	40		
Figure 15	Conductivité électrique moyenne des sols cultivés par les deux espèces et du sol témoin	40		
Figure 16	Taux de la matière organique dans les sols cultivés par les deux espèces et du sol témoin	42		
Figure 17	Sol cultivé non contaminé	45		
Figure 18	Sol cultivé contaminé	46		

Liste des figures

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Introduction générale	1
I.1. sol	3
I.1.1. Définition	3
I.1.2. Constituants du sol	3
1.1.3. Propriétés du sol	4
a. Texture	4
b. Structure	4
c. Porosité	5
d. Régime hydraulique du sol	5
e. Capacité d'échange cationique (CEC)	6
f. Température	6
I.2. Pollution du sol	6
I.2.1.Types des polluants du sol	6
I.2.2. Risques de la pollution du sol	6
I.3.Généralités sur les hydrocarbures	7
I.3.1. Définition	7
I.3.2.Classification	7
I.3.3. Sources des hydrocarbures dans l'environnement	8
I.3.4. Devenir des hydrocarbures dans l'environnement	8
a. Solubilisation	8

b. Evaporation	9
c. Biodégradation	9
d. Photo oxydation	9
I.3.4. Impact des hydrocarbures sur l'environnement	9
I.4. Techniques de réhabilitation des sols contaminés en hydrocarbure	10
I.4.1.Techniques de remédiation conventionnelle	10
I.4.1.1. Procédés physiques	10
I.4.1.2.Procédés thermiques	10
I.4.1.3.Procédés chimiques	11
I.4.2. Techniques de remédiation non conventionnelle	12
I.4.2.1. Bioremédiation	12
a. Définition et principe	12
b. Microorganismes utilisés	12
c. Techniques de bioremédiation	12
I.4.2.2. Phytoremédiation	14
a. Définition	14
b.Principe	14
c. Mécanismes de la phytoremédiation	15
c.1.Phytostabilisation	15
c.2.Phytoextraction	16
c.3.Phytovolatilisation	17
c.4.Phytodégradation (ou phytostimulation)	17
c. 5. Rhizofiltration	19

I.3.4.Avantages et limites	19
Chapitre II : Matériels et méthodes	
II.1. Matériel végétal	.20
II.1.1. Fève	20
II.1.1.1.Classification	20
II.1.1.2. Exigences de <i>Vcia faba L</i> .	.21
a. Exigences pédologiques	21
b. Exigences climatiques.	21
II.1.2. Haricot	21
II.1.2.1. Classification botanique.	. 22
II.1.2.2. Exigences de <i>Phaseolus vulgaris</i>	. 22
a. Exigences climatiques	22
b. Exigences pédologiques	23
II.1.3. Sol	23
II.1.4.Hydrocarbures	24
II.2. Méthodes	24
II.2.1.Préparation du sol	24
II.2.2.Test de germination	24
II.3. Mise en place de l'essai	25
II.4. Effets toxiques des hydrocarbures sur le rendement des plantes	25

II.4.1. Hauteur des plantes	25
II.4.2.Nombre des feuilles	25
II.4.3. Biomasse aérienne	26
II.4.4. Biomasse racinaire	26
II.5. Analyse physico-chimique du sol.	26
II.5.1.Potentiel d'hydrogène (pH)	27
II.5.2. Conductivité électrique (CE)	27
II.5.3.Calcaire total	27
II.5.4. Matière organique (MO)	28
II.6. Analyses microbiologiques	28
Chapitre III : Résultats et discussion	
Chapitre III : Résultats et discussion III. Résultats	37
III. Résultats	37
III. Résultats III.1. Effets des hydrocarbures sur le rendement des espèces	37
III. Résultats III.1. Effets des hydrocarbures sur le rendement des espèces III.1.1. La hauteur de la partie aérienne	373738
III. Résultats III.1. Effets des hydrocarbures sur le rendement des espèces III.1.1. La hauteur de la partie aérienne III.1.2. Nombres de feuilles	37373840
III. Résultats. III. 1. Effets des hydrocarbures sur le rendement des espèces III. 1. La hauteur de la partie aérienne III. 1. 2. Nombres de feuilles. III. 1. 3. Biomasse aérienne	37 38 40
III. Résultats. III. 1. Effets des hydrocarbures sur le rendement des espèces III. 1. La hauteur de la partie aérienne III. 1. 2. Nombres de feuilles. III. 1. 3. Biomasse aérienne III. 1. 4. Biomasse racinaire.	37 38 40 41
III. Résultats III.1. Effets des hydrocarbures sur le rendement des espèces III.1.1. La hauteur de la partie aérienne III.1.2. Nombres de feuilles III.1.3. Biomasse aérienne III.1.4. Biomasse racinaire III.1.5. Effets des hydrocarbures sur le sol	37 38 40 41 42

III.2.4. Matière Organique des sols cultivés par les deux espèces	46
III.3. Analyse microbiologique du sol.	48
III.4. Discussion	52
III.4.1. La hauteur de la partie aérienne	52
III.4.2. Nombre de feuilles	53
III.4.3. Biomasse aérienne	53
III.4.4. Biomasse racinaire.	54
III.4.5. Potentiel d'hydrogène	54
III.4.6. Conductivité électrique	55
III.4.7. Calcaire total	55
III.4.8. Matière organique	55
III.4.9. Microflore du sol	56
Conclusions générale	
Références bibliographique	

I. 1. Sol

I.1.1. Définition

Le sol est défini comme étant la couche de quelques centimètres (cm) à plusieurs mètres de matière organique et inorganique, accumulées au-dessus de la roche et capable de porter une végétation. Le sol est subdivisé en une couche supérieure (horizon (A), appelée aussi humus), et une couche inférieure (horizon B qui surmonte la roche mère (horizon C) (KOLLER, 2009).Le sol est :

- un support pour les êtres vivants ;
- un habitat à biodiversité très élevée ;
- un réservoir de matières organiques et minérales ;
- un régulateur des échanges et des flux dans l'écosystème ;
- un système épurateur de la substance toxique.

A la croisée de toutes ces fonctions, il est soumis a leurs contraintes, et joue un rôle irremplaçable à la surface du globe (INRA, 2009).

I.1.2. Les constituants du sol

Le sol est en majeure partie constitué en masse, comme en volume, de particules minérales de taille de nature minéralogiques différentes. Secondairement, il est formé de constituants organiques complexes (STENGEL., 2009).Le sol est un corps vivant composé de deux fraction :

a. Fraction minérale

La fraction minérale est principalement constituée de minéraux primaires (quartz, micas, feldspaths...) et de minéraux secondaire, les oxydes métalliques ou les argiles (DUCHAUFOUR., 2001). MIRSAL (2004) rapporte que la fraction minérale n'intervient pas ou peu dans la sorption des polluants organiques sauf quand la teneur en carbone organique du sol est faible.

b. Fraction organique

La fraction organique est formée en grande partie de cellulose, d'hémicellulose, de lignine et de tanins en plus faible pourcentages, venant de la matière décomposée. Cette matière organique contient également de petites quantités de protéines et des fragments d'hydrates de carbone, des composés aminés, phénoliques ou aromatiques issus de l'activité biologique

(MIRSAL., 2004). GABET (2004) atteste que cette fraction intervient fortement dans la sorption des composés organiques tels que les HAP (hydrocarbure aromatique polycyclique).

I.1.3. Les propriétés du sol

a. Texture

La texture reflète la part respective des constituants triés selon leur taille. On distingue la texture minérale qui est la proportion des sables, limons et argiles mesurée par l'analyse granulométrique et la texture organique qui reflète la proportion de fibres et de matériel fin micro agrégé dans les matériaux holorganiques (GOBAT, 2013).

La texture joue un rôle majeur, Elle conditionne directement la structure du sol, et donc la porosité et le régime hydrique. En particulier, la proportion d'argile influence la formation du complexe argilo-humique, la capacité d'échange, la fertilité et la profondeur d'enracinement. Le tableau I rapporte l'échelle granulométrique de texture de sol.

Tableau I: Échelle granulométrique de texture de sol (SIEGENTHALER., 2004)

Terre fine				Terre grossière		
Argile	Limon	Limon grossier	Sable fin	Sable grossier	gravier	Cailloux
<2μm	2-20 μm	20-50 μm	50-20 μm	0.2mm	2-20mm	>20mm

b. Structure

La structure détermine la répartition dans l'espace de la matière solide et des vides (ou pores) dont certains sont occupés par de l'eau, d'autres, les plus grossiers, par de l'air (tableau II). Cette répartition conditionne l'ensemble des propriétés physiques et biochimiques du sol : aération et possibilité de respiration des racines et de l'ensemble de la biomasse, rétention, par les forces capillaires, d'une réserve d'eau utilisable par les plantes en période sèche (DUCHAUFOUR, 1994)

La structure, résultant de l'assemblage des micro- et macro-agrégats du sol, de l'activité biologique et des variations climatiques, varie à court terme. Les agrégats sont un assemblage de constituants solides, minéraux et/ou organiques. La structure détermine d'abord la porosité et la circulation de l'eau dans les sols (CASDAR, 2011).

Tableau II: Les types de pores (DUCHAUFOUR., 1994)

Les pores	Taille	Caractéristiques	
Les pores grossiers	d>50Um	Occupés par l'air	
Les pores moyens	d=50Um à 10 Um	Tantôt occupés par l'eau, tantôt par l'air suivant les conditions météorologiques	
Les pores fins	d=10 Um à 0.2Um	Retiennent l'eau capillaire	
Les pores très fins	D<0.2 Um	Occupés par l'eau liée, non absorbable par les racines	

c. Porosité

Elle se caractérise par la distribution de la taille des pores, par leur forme, leur connectivité. La porosité désigne la fraction du volume total du sol occupé par des vides (eau + air). Dans le sol tels que, par exemple, la circulation de l'eau et de l'air, le transport de solutés et la croissance et le développement des racines (MILLINGTON et QUIRK, 1961). La porosité renseigne sur la capacité hydrique ou atmosphérique du sol, en volume ou en flux (GOBAT ,2010).

d. Régime hydraulique du sol

Le régime hydrique d'un sol définit l'état d'humidité de la zone racinaire durant une période déterminée (VERHEYE, 1999). Il dépend directement des trois propriétés précédentes, la texture, la structure et la porosité (GOBAT, 2010).

e. Capacité d'échange cationique (CEC)

La capacité d'échange cationique « CEC » mesure la capacité d'une argile à échanger des cations. Elle est exprimée en milliéquivalent par 100 grammes d'argiles. Les argiles ayant une valeur élevée de CEC, ont donc tendance à peu gonfler (WAKIM, 2006). Il est pourtant d'un grand intérêt de comparer des sols différents au sujet de la quantité de cations basiques fixes par rapport aux cations acides ; c'est une bonne indication de la fertilité minérale mais aussi du degré général d'évolution (GOBAT, 2013).

f. Température

La température influence la vitesse et l'intensité de nombreux processus biologiques et physiques (germination, croissance racinaire et activité de la microflore) (KOLLER, 2004)

Chapitre I : Synthèse bibliographiques

I.2. Pollution du sol

La pollution et la contamination sont deux expressions couramment employées pour désigner l'accumulation anormale et exogène, généralement due à une activité humaine, d'éléments ou de composés minéraux, organiques ou d'agents pathogènes dans un milieu donné dont la qualité se trouve affectée (BAIZE D., 1996).

En fonction des modalités d'arrivée des polluants au sol et de l'étendue des pollutions, on distingue :

a. Des pollutions ponctuelles souvent accidentelles ou liée à une activité industrielle, se caractérisant par des déversements très localisés, dans l'espace et dans le temps, d'un nombre limité de produits à des concentrations élevées.

b. Des pollutions diffuses impliquant des polluants à faibles concentrations sur de grandes surfaces (GIRARD, 2011).

I.2.1.Les polluants du sol

Selon Colin (2000), les activités humaines sont à l'origine de nombreuses contaminations localisées ou diffuses au niveau des sols et du sous-sol. En parcourant la planète, on relève 23% de la surface globale ou la pollution des sols est importante pour des raisons très diverses : l'accumulation anormale d'éléments toxiques ou d'agents pathogènes liés à l'activité humaine, l'industrie chimique et métallurgique, l'activite pétrolière, la destruction des déchets libérant des éléments toxiques qui polluent les sols. (Morel, 2012).

I.2.2.Les risques de la pollution du sol

Des risques liés aux trois facteurs suivants :

- Existence d'une source de pollution dangereuse.
- Possibilités de transfert.
- Existence de cibles.

Les risques liés à la mobilité des substances polluantes consistent en :

• les possibilités de transfert dans l'air, l'eau des nappes phréatiques, dans les cultures...

 les combinaisons chimiques plus ou moins dangereuses des polluants au contact des constituants du sol

I.3. Généralités sur les hydrocarbures

I.3.1. Définition

Les hydrocarbures regroupent différents produits pétroliers (pétrole brute, pétrole raffine, kérosène, essences, fuel, lubrifiants et huiles a moteurs).On peut employer aussi le terme d'hydrocarbures paraffinés.

Le terme « hydrocarbure pétrolier » (HCP) est un terme générique qui désigne les mélanges de composés organiques présents dans des matières géologiques comme l'huile et le charbon ou dérivés de ces matières (STANDARDS et PANCANADIENS, 2008).

I.3.2. Classification

La classification générale des hydrocarbures sont résumée dans le tableau III

Tableau III : Classification générale des hydrocarbures (GUIBET, 1997)

Type de famille	Désignation courante	Désignation Officielle	Motif structural	Formule globale
	Paraffines	Alcanes	—C—C—	C_nH_{2n+2}
Saturés	Naphtènes	Cyclanes	Cycle à 4,5ou 6 carbones	C_nH_{2n}
Insaturés	Oléfines	Alcènes	—C=C—	C_nH_{2n}
Hisatures	Acétyléniques	Alcynes	—C≡C—	C_nH_{2n-2}
Aromatiques	Aromatiques	-		C_nH_{2n-6}

I.3.3. Sources Des hydrocarbures dans l'environnement

Les hydrocarbures sont émis dans l'environnement par des processus naturels ou anthropiques. Il apparait que les hydrocarbures d'origine anthropique prennent progressivement le pas sur ceux d'origine naturelle. Cette évolution a été mise en évidence grâce à la réalisation de carottes tout autour du globe. Ce phénomène est logiquement accentué aux endroits où l'industrialisation et l'urbanisation sont le plus développées. Les processus naturels de génération des hydrocarbures sont divers. Parmi eux, les feux de forêts et de prairies sont considères comme les plus importants. Mais, il existe d'autres processus tels que les éruptions volcaniques, l'érosion des roches, les fuites de réservoirs naturels ainsi que la production d'hydrocarbures par les végétaux supérieurs ou par les algues. La contribution de cette dernière semble, au regard de la littérature, importante. La production des végétaux est marquée par la prédominance des n-alcanes (ROCHER et MOILLERON, 2003).

Deux sources anthropiques sont généralement distinguées : d'une part les sources pétrolières correspondant à une pétrogenèse à basse température et d'autre part les sources pyrolytiques correspondant à des processus de combustion à haute température. La circulation automobile constitue l'une des principales sources d'hydrocarbures puisqu'elle combine les deux processus. Les véhicules émettent des gaz d'échappement provenant de la combustion incomplète des carburants et sont aussi à l'origine de déversements de produits variés (carburants, huiles, débris de pneu, etc.) (ROCHER et MOILLERON, 2003).

Le chauffage urbain et les diverses industries employant des processus pyrolytiques (production de coke, craquage catalytique. etc.) constituent aussi des sources importantes d'hydrocarbures en milieu urbain (ROCHER et MOILLERON, 2003).

I.3.4. Devenir des hydrocarbures dans l'environnement

La biodégradation est un processus naturel qui affecte les hydrocarbures par des modifications physiques et chimiques : évaporation, dispersion, émulsification, dissolution, oxydation et sédimentation....

a. Solubilisation

Bien que les hydrocarbures soient des composés insolubles dans l'eau ; certains d'entre eux peuvent partiellement se dissoudre (hydrocarbures aromatiques et hydrocarbures à faible nombre de carbone) (BERTRAND et MILLE, 1989).

Un hydrocarbure est d'autant plus soluble que sa masse moléculaire est faible et que sa polarité est élevée. Il est important de noter que ces hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement ; ils sont difficiles à éliminer et sont adsorbés par la faune et la flore (SOLTANI, 2004).

b. Evaporation

Ce phénomène touche les faibles fractions de faible poids moléculaire et dépend des conditions atmosphérique (vent, température, ...).les hydrocarbures les plus légers, ayant de 4 à 12 atomes de carbone, qui représentent généralement prés de 50% des hydrocarbures totaux d'un brut moyen, sont éliminés rapidement dés les premiers jours, pouvant conduire à une pollution atmosphérique (SOLTANI, 2004).

c. Biodégradation

La biodégradation est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement. Les microorganismes en sont responsables ; en particulier les bactéries.

LUHACH (2012) rapporte que si les hydrocarbures sont incorporés au sol en quantité limitée (moins de 2% de la couche 0-15 cm), n'exercent pas d'action dépressive vis-à-vis des microorganismes du sol mais ils exercent une action nocive indirecte qui a été mise en évidence par les expériences de cet auteur : ces dernières ont consistés à incorporer des doses limitées d'hydrocarbures sont absorbé à l'état de fines particules autours des agrégats argilo-humiques, puis ils sont biodégradés assez rapidement .

d. Photo oxydation

Photo oxydation est observée au niveau de la surface de l'eau où l'air (oxygène) et la lumière (radiations solaires) sont présents pour la transformation des hydrocarbures (LUHACH et al., 2012). L'efficacité de ce phénomène dépend de la nature des hydrocarbures et de la présence

Chapitre I : Synthèse bibliographiques

de composés non hydrocarbonés. Ainsi, la photo-oxydation touche plus particulièrement les composés aromatiques qui sont plus photosensibles que les composés aliphatiques. Parmi ces derniers, les composés ramifiés sont plus facilement photo-oxydés que les n-alcanes (SOLTANI., 2004).

I.3.4. Impact des hydrocarbures sur l'environnement

Le type d'hydrocarbures, la durée de contact, la quantité déposée et surtout le niveau de toxicité, influent sur l'importance de l'impact. Les hydrocarbures légers sont plus toxiques que les hydrocarbures lourds (FATTAL, 2008).

Les hydrocarbures constituent une classe des produits chimiques organiques dangereux dont certains de leurs effets toxiques sont reconnus comme fortement cancérogènes, génotoxiques, immunotoxiques, mutagéniques ou tératogéniques. Ils représentent une menace pour la santé publique (Wang et *al*.,2000; Rehmann *et al*.,2001).

Les sols contaminés par les hydrocarbures présentent un danger lors d'un contact direct avec l'Homme ou l'animal ou lors de leur transfert dans les chaines alimentaires. C'est le phénomène de bioaccumulation avec le piégeage par les végétaux et les animaux des polluants ou de leurs produits de dégradation jusqu'à des teneurs atteignant les seuils de toxicité (SCRIBAN, 1999);

Affecter la structure physique du sol en recouvrant les agrégats du sol;

Réduire et détourner la filtration de l'eau dans le sol;

Entrave à la circulation d'air et de l'eau dans la matrice du sol (LEN et GAWEL, 2001);

L'aération du sol est moins bonne, la minéralisation de la matière organique est plus lente. A long terme, le fonctionnement de l'écosystème sol est réduit ainsi que sa fertilité. La nutrition et le métabolisme des plantes sont perturbés. Certaines espèces végétales, non tolérantes, disparaissent ce qui entraine des changements dans la composition des communautés végétales (BERT et DERAM, 1999).

I.4. Techniques de réhabilitation des sols contaminés en hydrocarbure

I.4.1. Techniques de remédiation conventionnelle

I.4.1.1. Procédés physiques

Actuellement, les traitements physiques constituent la majorité des techniques mises en œuvre . Elles consistent à séparer à et concentrer les polluants, sans les modifier ou les détruire. Les procédés d'extraction, de lavage et de confinement sont les plus souvent utilisés (SCRIBAN ,1999).

I.4.1.2.Procédés thermiques

Deux techniques ex situ sont utilisées, l'incinération et la désorption thermique. Elles sont employées pour la décontamination des sols pollués par les produits organiques. Ces technologies consistent à utiliser les hautes températures pour réduire les polluants en CO₂ et H₂O (LECOMTE, 1995).

I.4.1.3. Procédés chimiques

Les traitements chimiques ont pour but de détruire les polluants ou de les transformer en une forme moins nocive pour l'environnement; et ce ci par l'intermédiaire de réactions chimiques se produisant entre le polluant et le réactif ajouté. Ils peuvent être applicables in situ ou après excavation des sols. La majorité des procédés exigent que les sols soient sous forme de boues ou que les contaminants soient mobilisés dans un milieu liquide (MASTEN et DAVIES ,1997).

I.4.2. Techniques de remédiation non conventionnelles

La décontamination des sols peut être réalisée à l'aide de technologies plus douces que l'excavation ou les traitements chimiques. L'utilisation de plantes et de microorganismes permet la minéralisation des contaminants (DOYLE, 2008).

I.4.2.1. Bioremédiation

a. Définition et principe

Chapitre I : Synthèse bibliographiques

La bioremédiation et une technique de traitement biologique des sols pollués qui emploie des microorganismes en tant qu'agents de dégradation de la pollution.

Le procédé de bioremédiation consiste à activer la capacité naturelle que possèdent de nombreux organismes, la plupart du temps microscopiques (bactéries, micro algues champignons), à dégrader les polluants en composés inertes. Ces organismes peuvent être indigènes (déjà présents dans la zone polluée), ou exogènes (ajoutés au milieu), ou encore être prélevés sur le site contaminé, cultivés au laboratoire puis réintroduits dans le sol (bio augmentation) (ABDELLY, 2007)

b. Les microorganismes utilisés

Bactéries

Ce sont les microorganismes les plus abondants et les plus actifs. En fonction des propriétés du sol, tous les types physiologiques bactériens sont représentés dans la microflore tellurique, autotrophe et hétérotrophe : thermophiles et psychrophiles, aérobies et anaérobies facultatifs et anaérobies très répandus. Les actinomycètes jouent un rôle important dans la décomposition de la matière organique (BOUSSEBOU ,2005).

• Champignons

Les champignons semblent plus résistants que les bactéries dans les conditions de très faible humidité du sol et relativement plus abondante. Ils constituent les principaux responsables de la dégradation des résidus organiques du sol et les principaux minéralisateurs (SASSON ,1967).

• Algue

Les algues sont des organismes photosynthétiques qui capturent l'énergie solaire pour transformer des substances inorganiques en matière organique, elles présentent le grand avantage d'une structure améliorée du sol (Darwin, 1881).

c. Techniques de bioremédiation

- L'atténuation naturelle

La définition la plus utilisée à l'heure actuelle est celle des Etats-Unis (United States Environmental Protecion Agency EPA, 1996): Processus se produisant naturellement dans les sols et les eaux souterraines, sans intervention humaine, visant à réduire la masse, la toxicité, la mobilité, le volume ou la concentration des contaminants dans ces milieux. Les processus pris en considération sont : la dispersion, la dilution, la volatilisation, l'adsorption, les mécanismes de stabilisation ou de destruction des polluants, qu'ils soient physiques, chimiques ou biologiques.

L'atténuation naturelle d'un ou de plusieurs contaminant(s) est le résultat de la combinaison de plusieurs phénomènes physiques, chimiques et biologiques dans un milieu (notamment aquifère ou sol). Ces phénomènes modifient le comportement du ou des contaminant(s) et peuvent aboutir à sa disparition ou modifier sa forme chimique (spéciation), en rendant le polluant plus ou moins mobile et/ou plus ou moins toxique (BRGM, 2003).

- Biostimulation

Elle consiste à accroître l'activité de la microflore indigène, notamment en terme de croissance et de dégradation, par apport de nutriments (carbonés comme source d'énergie, minéraux) et/ou d'accepteurs finaux d'électrons (oxygène, nitrate, sulfate) pour pallier la pauvreté en nutriments du sol disponibles pour les microorganismes.

La biostimulation implique la modification de l'environnement pour stimuler les bactéries existantes capables de réaliser le processus de bioremédiation. Cela peut être fait par addition de diverses formes de nutriments limitants et des accepteurs d'électrons, tels que le phosphore, l'azote, l' oxygène ou le carbone (par exemple sous la forme de mélasse), qui sont par ailleurs disponibles en quantités suffisamment faibles pour limiter l' activité microbienne.(ADAMS et al., 2015)

-Bioaugmentation

Cette technologie consiste à introduire des cultures de microorganismes à la surface du milieu contaminé dans l'objectif d'augmenter la biodégradation des contaminants organiques. Les microorganismes employés peuvent être issus de sélections réalisées à partir d'échantillons environnementaux (sols, sédiments, boues, etc.). Elle est largement utilisée pour décontaminer les sites contenant des hydrocarbures. Les microorganismes choisis sont des bactéries dotées d'une grande capacité de digestion de ces hydrocarbures. Des microorganismes génétiquement modifiés peuvent être utilisés à ce titre mais leur introduction dans l'environnement doit faire l'objet de contrôles (SAYLER et RIPP, 2000).

I.4.2.2. La phytoremédiation

Afin de pallier les principales limitations des méthodes actuellement disponibles dans les stratégies de dépollution, les recherches s'orientent depuis quelques années vers l'utilisation de plantes supérieures. On sait en effet depuis longtemps que la présence d'un couvert végétal induit ou stimule la biodégradation d'une grande variété de contaminants organiques (REILLEY *et al.*, 1996).

Par ailleurs, certaines plantes, dites métallophytes, sont capables de se développer normalement sur des sites fortement contaminés par divers métaux et certains de ces végétaux, qualifiés d'hyperaccumulateurs (BROOKS, 1998), sont capables de stocker massivement les métaux dans leurs parties aériennes. Ainsi, les études concernant l'écophysiologie et le métabolisme des plantes supérieures en milieu contaminé, ont progressivement permis d'insérer le concept de phytoremédiation à côté de celui de bioremédiation des sites pollués.

a. Définition

Le terme phytoremédiation est composé de deux mots : phyto, qui signifie plante, et remédiation qui signifie remise en état (MEERTS, 2003).

b. Principe

La phytoremédiation est un procédé technologique biologique qui utilise un processus végétal naturel pour améliorer la dégradation et l'élimination des contaminants dans le sol ou dans les eaux souterraines (KAMATH et al. ,2004). Nous pouvons aussi définir ce terme comme étant l'utilisation de plante (arbres, espèces hyperaccumulatrices, plantes cultivables, etc.) et de leur microbiotes associés, d'amendements du sol et de techniques agricoles pour bloquer, extraire, accumuler, transformer ou détruire les contaminants environnementaux (CUNNINGHAM ,1996).

c. Mécanismes de la phytoremédiation

Aujourd'hui, le terme de phytoremédiation est largement accepté et regroupe toutes les méthodes basées sur l'utilisation de végétaux supérieurs dans un but de dépollution. Malgré leur développement récent, ces méthodes sont variées et des résultats encourageants ont d'ores et déjà été obtenus pour des problématiques diverses. Plus précisément, les quelques études réalisées à ce jour permettent d'envisager cinq types de stratégies de phytoremédiation particulièrement prometteuses (Figure 01) :

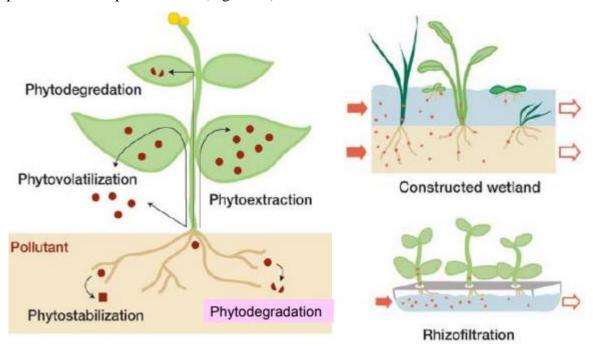


Figure01: Les différents types de phytoremédiation (PILON-SMITS, 2005).

c.1. Phytostabilisation

La phytostabilisation utilise les plantes pour immobiliser les contaminants dans le sol grâce à l'absorption et l'accumulation dans les racines, l'adsorption au niveau des racines ou la précipitation dans la zone racinaire provoquant une stabilisation physique des sols.

Contrairement aux autres techniques de phytoremédiation, la phytostabilisation n'a pas pour but de décontaminer un sol mais d'en réduire les risques pour la santé humaine et l'environnement.

La Phytostabilisation est surtout efficace pour les sols de texture fine avec de fortes teneurs en matière organique. Mais elle est utilisable également sur la plupart des sites contaminés en surface (CUNNINGHAM et al. ,1997). La figure 02 présente le processus de la phytostabilisation des contaminants au niveau du sol.

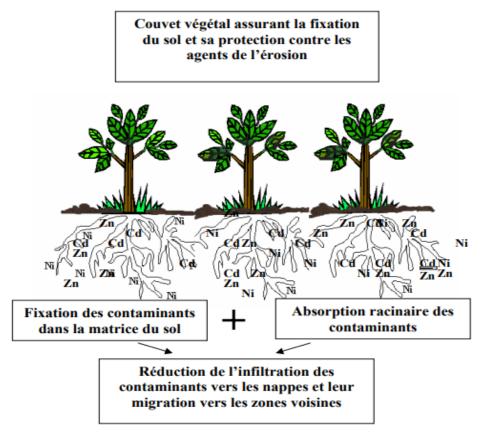
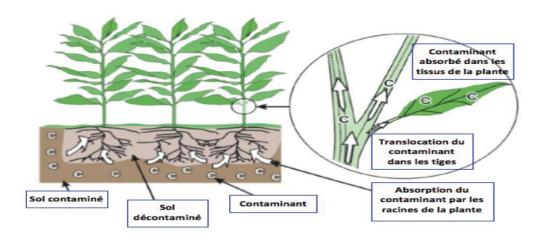


Figure02 : Processus de la phytostabilisation des contaminants au niveau du sol (ABDELLY ,1995).

c.2. Phytoextraction

La phytoextraction s'adresse au sol moyennement à faiblement contaminé. Cette technique est basée sur l'utilisation de végétaux hyperaccumulateurs, qui absorbent les métaux du sol et les accumulent dans des organes aériens faciles à récolter (MCGRATH, 1998).

Cette méthode, qui se révèle efficace pour une grande variété de métaux lourds (Pb, Cd, Ni, Zn, ...), est aujourd'hui proposée par de nombreuses sociétés américaines. La figure 03 explique le processus de phytoextraction, absorptions des contaminants présents dans le sol.



Figue 03: Processus de phytoextraction, absorptions des contaminants présents dans le sol (tiré de : ITRC, 2001).

c.3. Phytovolatilisation

La phytovolatilisation permet la transformation en produits volatiles puis le relargage dans l'atmosphère d'éléments tels que le mercure ou le sélénium qui, normalement, ne présentent plus un danger pour l'homme. Cette approche, encore au stade expérimental, fait actuellement l'objet de recherches très actives ; les résultats obtenus (BIZILY *et al.*,1999) dans ce domaine sont particulièrement encourageants.

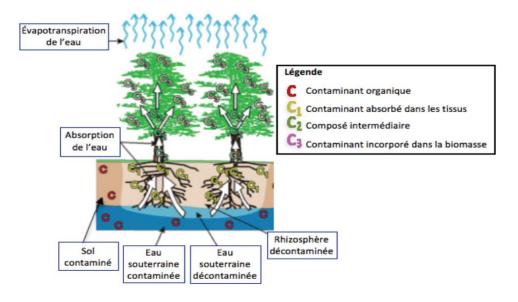
La phytovolatilisation présente également l'avantage de ne pas nécessiter de récolte de la biomasse puisque les contaminants sont dispersés dans l'atmosphère (PILON-SMITS ,2005).

c. 4. La phytodégradation (ou la phytostimulation)

La phytostimulation exploite l'effet stimulant de la rhizosphère sur la dégradation microbiologique des composés organiques. Cette démarche est notamment utilisée depuis plusieurs années par l'armée américaine dans le cadre de la dépollution de sites contaminés par des explosifs (TNT) ou par des herbicides.

Pour les polluants organiques difficilement biodégradables tels que les hydrocarbures, les plantes peuvent être d'un grand secours. La phytodégradation est une méthode de décontamination des sols, consistant en la dégradation de polluants par les plantes cultivées (DABOUINEAU, 2005). Une concentration de 7 tonnes par hectare permet une croissance normale de la plante et un rythme de dégradation élevé par les microorganismes se développant dans la rhizosphère (CHAINEAU et al. ,1995).

Les deux termes phytostimulation et phytodégradation sont souvent utilisés indifféremment mais il existe une distinction. En effet, la phytodégradation est la dégradation des composés par le métabolisme de la plante alors que la phytostimulation est la stimulation de la flore du sol capable de dégrader les composés organiques (CHAINEAU et al. ,1995).La figure 04 présente le processus de phytodégradation des contaminants organiques.



Figue 04: Phytodégradation des contaminants organiques (tiré de : ITRC ,2001).

c.5. Rhizofiltration

La rhizofiltration utilise les capacités élevées du système racinaire de certains végétaux pour fixer les polluants d'un milieu liquide. Cette méthode a notamment été testée en Ukraine dans le cadre de la dépollution du site de Tchernobyl (TIMOTHY ,2000).

I.4.3. Avantages et limites

Bien que la technique de phytoremédiation soit considérée comme une mesure verte en comparaison aux techniques conventionnelles, il est tout de même nécessaire de considérer les risques qui sont associés au transfert des contaminants dans l'environnement.

Avantage

- La phytoremédiation garanti un couvert végétal qui participe à la beauté du paysage et qui freine l'érosion du sol et le lessivage des particules du sol tout en assurant une augmentation des infiltrations (DECHAMP et MEERTS ,2003). Ce couvert végétal permet de réduire le déplacement des polluants dans l'air, l'eau, ou le sol, puisqu' ils sont maintenus prés ou dans les plantes (sauf dans le cas de la Phytovolatilsation).
- Avec la phytoremédiation, la remédiation du sol se fait en minimisant les perturbations de l'environnement et permet même parfois de relancer le cycle de dégradation de la matière organique dans des zones où la végétation est limitée vu la présence de métaux lourds qui altèrent la pédoflore et la pédofaune.
- Le coût de la phytoremédiation est faible ; il est 10 à 100 fois moins onéreux que les techniques classiques (BERT et DERMA ,1999).
- La phytoremédiation requiert moins d'équipement et de travail que d'autres méthodes puisque ce sont les plantes qui font l'essentiel du de travail (PILON-SMITS ,2005).

Limites

La phytoremédiation présente, cependant, des inconvénients non négligeables. Il sont liés à un manque de connaissances mais aussi à la difficulté inhérente a la gestion d'un matériel vivant.

- Pour appliquer les techniques de phytoremédiation, il est nécessaire, à travers des analyses préalables, de s'informer le mieux possible sur les propriétés physico-chimiques, du terrain, types de sol (caractéristique minéralogique, granulométrique, microbiologique...) (BAIZE, 1997).
- Le procédé dépend de la météorologie, des attaques des insectes, des microorganismes et des substances phytopathogènes.
- La superficie des sites doit être suffisamment importante pour l'utilisation des techniques agricoles (KOLLER, 2009).

Chapitre II: Matériels et méthodes

Ce chapitre présente les dispositifs expérimentaux et les techniques utilisées pour caractériser les plantes et le sol. Il regroupe donc le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation des expériences dont les résultats sont présentés dans le chapitre qui suit.

Pour atteindre l'objectif de notre étude, qui consiste à évaluer l'effet toxique des hydrocarbures notamment le pétrole brut sur des cultures en pot de fève et haricot dans deux types de sol pollués et non pollués, les manipulations ont été effectuées au laboratoire de pathologie des écosystèmes.

II.1. Matériel végétal

La capacité de certaines plantes à tolérer ou même à accumuler des contaminants a permis d'ouvrir de nouvelles voies de recherche sur le traitement des sols.

II.1.1. La fève

La fève (*Vicia faba* L.) est une légumineuse (Fabaceae) dont la culture est d'origine méditerranéenne. Elle est cultivée pour ses graines comestibles, tout particulièrement en Russie ou elle constitue un met traditionnel. En Algérie, on la cultive sur les plaines côtières et les zones sublittorales (ZAGHOUANE, 1991).

II.1.1.1.Classification botanique de la fève

La classification botanique de la fève selon APG III(2009) est la suivante :

- Règne Plantae
- Clade Dicotylédones vraies
- Clade Fabidées
- Ordre Fabales
- Famille Fabaceae
- Espèce......Vicia_faba L.

Chapitre II: Matériels et méthodes

II.1.1.2 les exigences de *V.faba*

a. Les exigences pédologiques

Eau

L'espèce est très exigeante en humidité du sol surtout pendant les périodes initiales de son développement. Les phases de floraison et de développement des gousses présentent une sensibilité élevée vis-à-vis d'un stress hydrique. C'est pourquoi il faut intervenir par arrosage ou irrigation en cas de faibles précipitations (CHAUX et FOURY, 1994).

Sol

Selon CHAUX et FOURY(1994), la fève ne présente pas d'exigence spécifique au regard de la nature des sols. Cependant, la préférence est donnée au sol sablo-argileux humifié (PERON,2006) avec un pH neutre a légèrement alcalin (7-8.3). D'après MARCEL (2002), la fève croit mieux sur des sols à texture plus lourde, mais craint les sols légers (risque de sécheresse).

b. Exigences climatiques

• Température

La fève supporte les faibles gelées ne dépassant pas -3 °C. Les températures supérieures à 23 °C sont néfastes pour la fève, elles provoquent la chute prématurée des fleurs, stimulent le développement de maladies virale et fongique et rend la plante susceptible à l'attaque des insectes ravageurs (CHAUX et FOURY, 1994). Une température moyenne de l'ordre de 13°C est optimale pour la croissance de la fève (ZERIHUN, 2006).

• Lumière

D'après LAUMONIER(1979), la fève se comporte comme une plante de jour long qui se traduit par une exigence importante en luminosité.

II.1.2. Haricot

Les espèces du genre *Phaseolus* sont des plantes herbacées généralement annuelles, parfois bisannuelles ou vivaces pour certaines d'entre elles, dans des conditions de milieu favorables. Il s'agit de plantes lianescentes à croissance indéterminée.

II.1.2.1. Classification botanique

L'haricot est classé, selon APG III (2009), comme suit :

- Sous-règne...... Tracheobionta
- Division......Magnoliophyta
- Classe Magnoliopsida
- OrdreFabales

- Tribu Phaseoleae
- Sous tribu......Phaseolinae
- Espèce.....Phaseolus vulgaris L.

II.1.2.2.les exigences de P vulgaris

a. Exigences climatiques

• La lumière

C'est une plante qui a besoin de lumière mais cultivée à l'ombre, elle croît beaucoup et produit peu c'est à dire, elle met beaucoup de temps à produire des organes végétatifs (ANDRIANA, 2005)

• La température

La croissance n'est rapide qu'au dessus de 12 à 13°C pour les variétés naines et 14 à 15°C pour les variétés à rames. Le zéro de végétation est d'environ de 10°C. Le haricot supporte les températures élevées s'il est suffisamment humide. Le gel détruit la culture (ANDRIANA, 2005).

• L'eau

La culture du haricot a besoin de 300 à 400 mm d'eau, régulièrement répartie, avec une période critique en début de floraison. La sécheresse provoque le flétrissement et la coulure des fleurs alors que l'humidité excessive favorise le développement des maladies cryptogamiques comme l'anthracnose et peut déclencher des chloroses en début du cycle (ANDRIANA, 2005).

• Le vent

Les vents violents au moment de la floraison provoquent la coulure des fleurs et compromettent la production (ANDRIANA, 2005).

b. Exigences édaphiques

Le haricot préfère les sols légers, profonds et sains. Les terres lourdes sont à éviter ainsi que les fonds à humidité stagnante à moins de semer sur billons. Il s'accommode aux sols légèrement acides, ayant un pH variant de 6 à 6,8 mais son développement reste correct jusqu'à pH 4,7 (GRAHAM, 1980).

Il réagit bien aux engrais organiques sous l'influence du fumier. La récolte de graines augmente de 50 à 100% (SMIROV et al, 1970). Néanmoins, il supporte mal les fumiers non décomposés.

II.1.3. Le sol

Pour réaliser notre expérience, un échantillon de sol a été prélevé a partir d'une parcelle non cultivée de l'Institut Technologique Moyen Agricole Spécialise en Agriculture de Montagne (l'I.T.M.A.S) de Boukhalfa (TIZI OUZOU). Le prélèvement correspond à la couche superficielle du sol (0-25 cm).

II.1.4. Les hydrocarbure

L'hydrocarbure utilisé pour la contamination du sol est un pétrole brut qui provient d'une unité d'exploitation de HASSI MESSAOUD. C'est un substrat qui consiste en un

mélange de composés aliphatiques et aromatiques dont les proportions respectives sont de 45% à 48% et de 32% à 35% (ALI AHMED et BELKAID, 2006).

II.2. Matériels et méthodes

L'étude consiste en une évaluation de l'effet toxique des hydrocarbures, notamment le pétrole brut sur des cultures de fève et d'haricot, sur les micro-organismes, et sur le sol. Les paramètres auxquels nous nous sommes intéressés sont le taux de levée, les biomasses aériennes et racinaires, la hauteur des plants, le nombre de feuille et, les paramètres physicochimiques du sol avant et après culture.

II.2.1. Préparation du sol

Après l'échantillonnage sur le terrain, le sol est séché à l'air libre, broyé puis divisé en deux lots. Un de ces lots a été contaminé par le pétrole brut à 5% et l'autre n'est pas contaminé, ensuit chaque lots est tamisé (pour l'homogénéiser) à 5mm pour le semis, et à 2 mm pour effectue d'autres analyses.

II.2.2. Test de germination

Le test a été réalisé le 13/03/2017 dans le but de tester la fiabilité des graines de la fève et de l'haricot. Ce test consiste à mettre 10 graines de la fève et 20 graines d'haricot dans des boites de pétri contenant 100 g de sol, l'un est contaminé et l'autre non contaminé. La figure 05 présente le test de germination pour les deux espèces (fève et haricot).

Le taux de germination est calculé selon la formule suivante :

Le pourcentage de germination%=(nombre de graines germées /nombre total de graines)*100







B: Haricot

Figure 05 : Test de germination pour les deux espèces (originale, 2017)

II.3.La mise en place de l'essai

Le semis a été réalisé le 22/03/2017 pour les deux espèces fève et haricot. On dispose les deux cultures, dans des pots en plastique de 15 cm de diamètre et de 15 cm de hauteur (3 pots cultivés non contaminés, et 3 autres cultivés contaminés pour chaque espèce) et 3pots non cultivés contaminés qui servent de témoin. Avant la mise en pot du sol, le fond des pots est tapissé d'une couche de gravier afin d'assurer le drainage. Chaque pot est rempli à hauteur de 1 kg de sol.

Dans chaque pot, 5 graines de la fève et de haricot ont été semées à une profondeur de 3cm. L'observation et le suivi de l'évolution de l'état des cultures sont quotidiens avec un arrosage régulier (20 ml) pendant une durée de 2 mois et 6 jours.

La récolte a eu lieu le 28/05/2017. Les plantes ont été nettoyées et séchées pour faire l'objet de plusieurs analyses.

II.4. Effets toxiques des hydrocarbures sur le rendement des plantes

Les effets toxiques des hydrocarbures sur les plantes sont mis en évidence par l'évaluation des paramètres suivants : taux de levée, la hauteur des plantes, biomasse végétale et nombre de feuilles.

A la fin de l'expérience nous avons effectué des pesées pour estimer le poids de la matière fraiche. En suite, nous avons séché les plantules à l'étuve à 80 °C pendant 48 h pour estimer le poids de la matière sèche (BENALI et BENOUAER, 2014).

II.4.1. Hauteur des plantes

Elle consiste à mesurer, en centimètres (cm) à l'aide d'une règle graduée, la croissance en longueur des plants. Apres 2 semaines de culture (10/04/2017), nous avons procédé a mesuré la hauteur des plantes jusqu'à le jour de la récolte.

II.4.2. Nombre des feuilles

Après 2 semaines de culture (10/04/2017), nous avons procédé au comptage du nombre des feuilles pour chaque plante

II.4.3. La biomasse aérienne

Il s'agit de prendre le poids de la partie aérienne des plantes de chaque lot à l'état sec. La partie aérienne étant séparée de la partie racinaire et séchée à l'étuve à 60°C pendant 10 jours.

II.4.4. La biomasse racinaire

Elle consiste à estimer le poids des racines, en suivant les mêmes étapes que pour la biomasse aérienne, après avoir bien nettoyé et rincé les racines.

II.5. Analyse physico-chimique du sol

Nous avons effectué, dans un premier temps des analyses sur le sol de l'I.T.M.A. A la fin de l'expérimentation les analyses sont faites sur un sol cultivé non contaminé, sol cultivé contaminé et un témoin non cultivé contaminé (sol de l'ITMA après deux mois).

II.5.1. Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH représente l'acidité du sol. La mesure du pH de la solution du sol nous renseigne sur la concentration en ions H₃O⁺. Ces ions sont en équilibre avec ceux présents à l'état fixé sur les argiles et la matière organique formant le complexe adsorbant (colloïdes du sol).

La méthode la plus exacte pour mesurer le pH d'un sol consiste à utiliser un pH mètre qui donne directement la valeur du pH quand on plonge des électrodes en verre dans une solution obtenue en mélangeant une part d'échantillon du sol avec deux parts d'eau distillée (DUCHAUFFOUR, 2001).

- Mode opératoire

- Peser 10g de l'échantillon tamisé à 2 mm;
- Ajouter 25ml de l'eau distillée, agiter pendant 10 minutes ;
- Laisser au repos pendant 2 heures;
- Mètre l'électrode dans la solution à analyser puis effectuer la mesure après la stabilisation de l'appareil.

II.5.2. La conductivité électrique (CE)

Selon DUCHAUFOUR (1965), la conductivité électrique relate les teneurs en différents sels solubles contenues dans un milieu donné. Ces sels peuvent contenir des ions de sodium, de magnésium, de chlore et autres.

Lorsque la concentration en sels est trop élevée, les racines se développent mal et la croissance de la plante est ralentie.

Mode opératoire

- Peser 5g de sol, mettre dans un bécher ;
- Ajouter 25 ml d'eau distillée ;
- Agiter pendant 2 min;
- Laisser reposer pendant 30 min;
- Filtrer
- Refiltrer, pour obtenir une filtration claire.

Nous mesurons la conductivité électrique avec un conductimètre.

II.5.3. Le calcaire total

Parmi les différents éléments chimiques qui entrent dans la composition du sol le calcaire joue un rôle essentiel non seulement dans la nutrition des plantes mais encore dans la pédogenèse (DUCHAUFOUR, 1984).

Mode opératoire

- Peser 1 g de sol, tamiser à 2 mm dans un bécher de 250 ml ; ajouter quelque goutte d'eau distillée
 - Ajouter 20 ml d'acide chlorhydrique à N;
 - Ajuster à 100 ml avec de l'eau distillée ;
 - Porter le bécher sur bain de sable à 60°C et agiter de temps à autre ;
 - Laisser le bécher sur le bain de sable pendant 45 min
 - Décanter sur filtrat, ajouter 3 goutes de phénolphtaléine à 2 %.
 - Titrer le reste de (Hcl) par de la soude (NaOH) à N.

Chapitre II: Matériels et méthodes

Nous mesurons le calcaire total à l'aide d'une burette graduée.

II.5.4. Matière organique (MO)

Les classes d'appréciation de la teneur du sol en matière organique sont réalisées en fonction du taux de carbone.

La détermination de la matière organique est effectuée par la méthode de Anne : le carbone organique est oxydé par du bichromate de potassium en milieu sulfurique (PETARD, 1993).

Le calcul du pourcentage de carbone organique se fait par le titrage direct du bichromate de potassium avec la solution de Mohr.

- Mode opératoire

- Dans une fiole conique de 250 ml, mettre 2 g de l'échantillon ;
- Ajouter 10 ml de solution de bichromate à 8 %, la prise se fera à la pipette ;
- Ajouter 15 ml d'acide sulfurique concentré
- Porter à ébullition modérée pendant 5 min à compter de l'apparition de la première goutte de condensation ;
 - Laisser refroidir
- Transvaser dans un ballon jaugé de 200 ml et laver l'erlenmeyer avec 150 ml d'eau distillée, compléter au volume ;
 - Après l'homogénéisation, prélevée, à l'aide d'une pipette, 20 ml de la solution ;
 - Diluer avec 150 ml d'eau distillée;
 - Ajouter 3 à 4 gouttes de diphénylamine ;
 - Ajouter 1.5 g de fluorure de sodium en poudre ;
 - Titrer, en agitant, avec une solution de sel de Mohr 0.2 N.

II.6. Analyses microbiologiques

La microflore du sol, ou micro-organismes, remplit des fonctions et des services essentiels : décomposition de la matière organique, recyclage du carbone et de nutriments minéraux (azote, phosphore, potassium) dans le sol, décontamination de sols pollués.

- Mode opératoire

- 10 g de sol sont transférés dans 90 ml d'eau distillée stérile contenue dans un erlenmeyer ;
- •Le mélange est ensuite mis en agitation pendant 30 minutes pour obtenir une bonne dilacération des particules ;
- Pour obtenir une concentration variable de propagules et faciliter le dénombrement des colonies une série de dilution est réalisée à partir de la solution mère dont la concentration est de 10^{-1} ;
- Pour obtenir une solution à 10⁻², 1 ml de la solution mère est transféré dans 9 ml d'eau distillée stérile :
- Ainsi, une série de dilution allant de 10⁻² à 10⁻⁶ est réalisée dans des tubes hémolyse.1µl de chaque dilution est étalée sur les milieux de culture contenus dans des boîtes de Pétri;
- L'incubation est faite à l'obscurité dans une étuve à 28 °C pendant 2 jours. La figure 06 explique le dénombrement et l'ensemencement des microorganismes présents dans le sol.

Dénombrement de la microflore bactérienne

Le dénombrement après culture concerne, évidemment les cellules viables de l'échantillon autrement dit, les cellules capables de croitre. Il est basé sur l'aptitude de chaque bactérie, fixée par la solidification du milieu gélosé, à former une colonie visibles à l'œil nu (Austin, 1988).

Après 48h d'incubation à 28°C, les colonies développées sont dénombrées à l'aide d'un compteur de colonies. La figure ci-après, représente un schéma explicatif de dénombrement et l'ensemencement des microorganismes présents dans le sol.

Selon MARCHAL et BOURDON (1982), le nombre de germes par gramme de sol est déterminé en calculant la moyenne arithmétique des résultats obtenus et en tenant compte des facteurs de dilution, selon la formule:

$$N = n / d. v$$

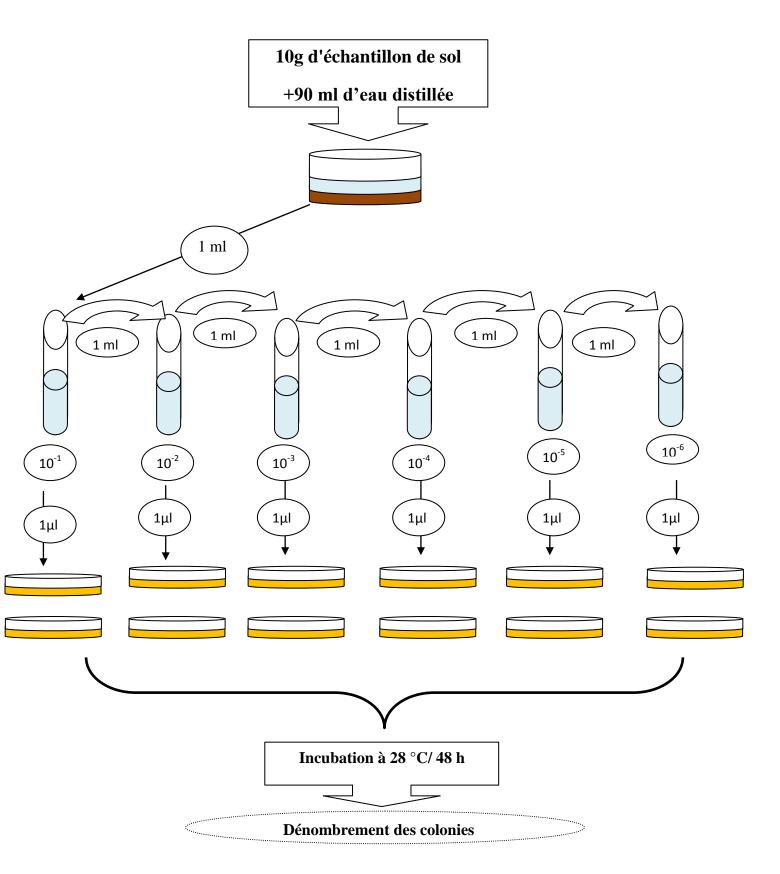


Figure 06 : Schéma explicatif du dénombrement et l'ensemencement des microorganismes présents dans le sol

Chapitre II : Matériels et méthodes

III. Résultats

Avant de faire la culture des deux espèces *V. faba* et *Phaseolus vulgaris*, nous avons analysé le sol de l'ITMA à l'état initial et nous avons testé la fiabilité des graines des deux espèces. Les résultats de ces analyses sont présentés dans l'annexe I.

III.1. Effets des hydrocarbures sur le rendement des espèces

III.1.1. Hauteur de la partie aérienne

La figure 07 représente la hauteur moyenne de la partie aérienne des deux espèces cultivées dans le sol non contaminé et contaminé (fève et haricot).

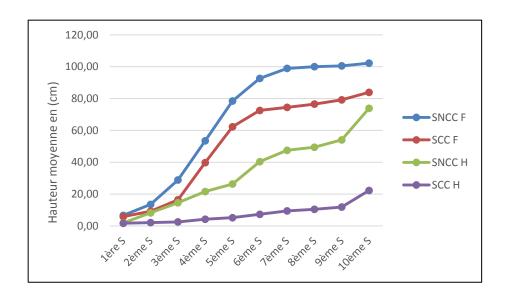


Figure 07: Hauteur moyenne des plantes du haricot et de la fève cultivés dans les sols contaminé et non contaminé

Concernant la fève cultivée dans les sols non contaminé et contaminé, nous remarquons une augmentation de la hauteur de la partie aérienne pendant toute la durée de culture avec un rythme de croissance rapide pour atteindre au bout de la dixième semaine, une hauteur moyenne de 102.2 cm dans le sol non contaminé et une hauteur moyenne de 83.86 cm dans le sol contaminé. En ce qui concerne le haricot, la figure 07 montre une augmentation hebdomadaire de la hauteur de la partie aérienne dans le sol non contaminé pour atteindre une hauteur moyenne de 73.83 cm au bout de la dixième semaine. Par contre, pour le haricot cultivé dans le sol contaminé nous

avons observé un rythme de croissance moins important que celui enregistré dans le sol non contaminé et la hauteur de la partie aérienne n'a pas dépassé 23 cm.

Les résultats de l'analyse de la variance montrent qu'il ya une différence significative pour le facteur sol P=0.02175 et une différence très hautement significative pour le facteur espèce P=7.486 10⁻⁵. Cependant l'interaction des 2 facteurs n'est pas significatif (tableau IV).

Tableau IV: Analyse de la variance de la hauteur des deux espèces

Source de	DDL	SC	CM	F	P
variation					
Sol (facteur 1	1	4362.9	4362.9	5.7545	0.02175 *
Espèce (facteur 2)	1	15150.4	15150.4	19.9827	7.486 10 ⁻⁵ ***
Sol*espèce	1	277.7	277.7	0.3662	0.54886
Résiduelle	36	272994.2	758.2		

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.5) concernant la hauteur de la partie aérienne des deux espèces pour le facteur sol a donné deux groupes homogènes, le groupe a contient le sol non contaminé (SNC) avec une moyenne de 50.68 et le groupe b contient le sol contaminé (SC) avec une moyenne de 29.79. Cela signifie que la contamination du sol par le pétrole brut agit négativement sur la croissance de la partie aérienne des deux plantes.

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.5) concernant la hauteur de la partie aérienne des deux espèces pour le facteur espèce montre qu'il existe deux groupes homogènes, le groupe à qui contient *V. faba* avec une moyenne de 59.69 et le groupe b qui contient *Phaseolus vulgaris* avec une moyenne de 20.77.

La hauteur de la partie aérienne de deux espèces (fève et haricot) présenté dans la figure 08.





A: Fève B: Haricot

Figure 08 : la hauteur de la partie aérienne de deux espèces

III.1.2. Nombres de feuilles

Les résultats concernant le nombre moyen des feuilles des deux espèces cultivées dans le sol non contaminé et le sol contaminé sont représentés dans la figure 09.

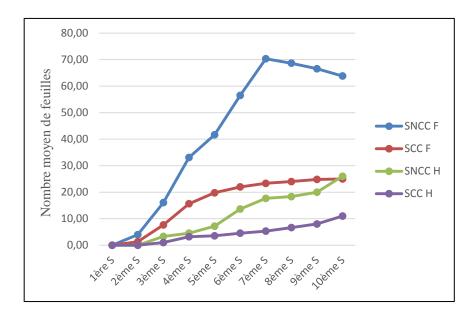


Figure 09: Nombre moyen des feuilles de deux espèces (haricot et fève) cultivés dans les sols contaminé et non contaminé

Pendant la septième semaine de culture la fève attient un nombre moyen de feuilles de 70.33, nous avons remarqué par la suite que les feuilles de la fève cultivée dans le sol non contaminé jaunissent et se dessèchent ce qui explique la baisse du nombre moyen des feuilles qui atteint de 63.83 et pour la fève cultivée dans le sol contaminé et de 25 feuilles.

Concernant le haricot, nous avons constaté une valeur maximale de 26 feuilles dans le sol non contaminé et une valeur qui ne dépasse pas 11 feuilles dans le sol contaminé au bout de la dixième semaine.

Les résultats de l'analyse de la variance montrent qu'il ya une différence hautement significative pour le facteur sol P=0.001975, et une différence très hautement significative pour le facteur espèce P=8.584 10⁻⁵.Une différence significative est également révélée pour l'interaction de 2 facteurs (Tableau V).

Tableau V : Analyse de la variance de nombre de feuilles des deux espèces

Source de variation	DDL	SC	CM	F	P
Sol (facteur 1)	1	2633.2	2633.2	11.1371	0.001975 **
Espèce (facteur 2	1	4628.5	4628.5	19.5767	8.584 10 ⁻⁵ ***
Sol*espèce	1	899.8	899.8	3.8059	0.058888 .
Résiduelle	36	8511.5	8511.5		

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.5) concernant le nombre de feuilles des deux espèces pour le facteur sol a donné deux groupes homogènes, le groupe a contient le sol non contaminé avec une moyenne de 26.57 et le groupe b contient le sol contaminé avec une moyenne de 10.34.

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.5) concernant le nombre de feuilles des deux espèces pour le facteur espèce montrent qu'il existe deux groupes homogènes, le groupe a qui contient *V. faba* avec une moyenne de 29.21 feuille et le groupe b qui contient *Phaseolus vulgaris* avec une moyenne de 7.7 feuilles.

III.1.3. Biomasse aérienne

La figure 10 représente la biomasse aérienne moyenne des deux espèces cultivées dans le sol non contaminé et le sol contaminé.

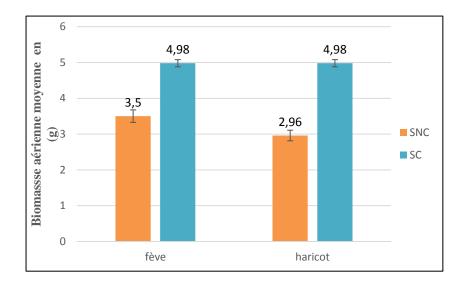


Figure 10: La biomasse aérienne moyenne des deux espèces

Nous avons enregistré pour, la fève une biomasse aérienne moyenne de 3.666g dans le sol non contaminé. Elle est légèrement inférieure à celle enregistrée dans le sol contaminé avec une valeur de 2.549g. Pour le haricot, nous avons obtenu une biomasse aérienne moyenne de 1.99g dans le sol non contaminé et une biomasse aérienne très faible est enregistrée dans le sol contaminé avec une valeur de 0.1g.

Les résultats traités par l'ANOVA pour la biomasse aérienne montrent qu'il n'y a pas de différence significative pour les deux facteurs P = 0.14545 pour le facteur sol et P = 0.05824 pour l'espèce. L'interaction des 2 facteurs est également non significative (Tableau VI).

Tableau VI : Analyse de la variance de la biomasse aérienne des deux espèces

	DLL	SC	CM	F	P
Source de					
variation					
	1	6,7966	6,7966	2,6011	0,14545
Sol (facteur 1)		•			
	1	12,7411	12,7411	4,8762	0,05824.
Espèce (facteur 2)					,
	1	0,4520	0,4520	0,1730	0,68840
Sol*espèce		,			ŕ
	8	20,9035	2,6129		
Résiduels					

III.1.4. La biomasse racinaire

La figure 11 représente la biomasse racinaire moyenne des deux plantes cultivées dans le sol non contaminé et le sol contaminé.

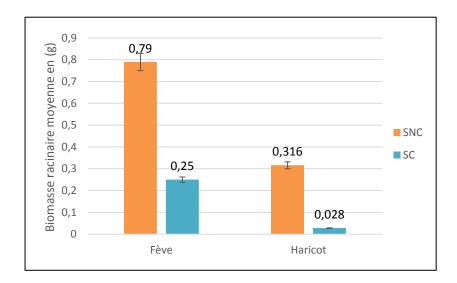


Figure 11 : La biomasse racinaire moyenne des deux espèces (haricot et fève) cultivés dans les sols contaminé et non contaminé

D'après les résultats de la figure 11, nous avons obtenu pour la fève, une biomasse racinaire moyenne plus élevée dans les sols non contaminé et contaminé avec une valeur de 0.79g et 0.25g respictivement. Une biomasse racinaire plus faible est enregistrée pour le haricot cultivé dans les sols non contaminé et contaminé avec des valeurs respectives de 0.316g et 0.028g.

Les résultats de l'analyse de la variance montrent qu'il ya une différence hautement significative pour le facteur sol P=0,007688, et une différence significative pour le facteur espèce P=0.017581 et une différence non significatif pour l'interaction des 2 facteurs (Tableau VII).

Tableau VII: Analyse de la variance pour la biomasse racinaire moyenne des deux éspèces

Source de variation	DLL	SC	СМ	F	P
	1	0,53341	0,53341	12,4882	0,007688**
Sol (facteur 1)					
	1	0,37950	0,37950	8,8848	0,017581*
Espèce (facteur 2)					
	1	0,04687	0,04687	1,0974	0,325444
Sol*espèce					
	8	0,34170	0,4271		
Résiduels					

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.5) concernant la biomasse racinaire des deux espèces a donné deux groupes homogènes pour le facteur sol, le groupe a contient le sol non contaminé avec une moyenne de 0.5563g et le groupe b contient le sol contaminé avec une moyenne de 0.1347g.

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.5) concernant le facteur espèce montre qu'il existe deux groupes homogènes, le groupe a qui contient *V. faba* avec une moyenne de 0.5233g et le groupe b qui contient *Phaseolus vulgaris* avec une moyenne de 0.1677g.

La racine de la fève non contaminée après le rinçage présenté dans la figure 12.

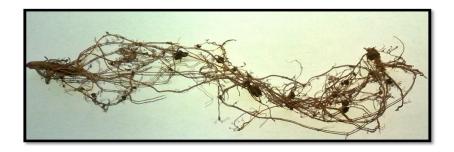


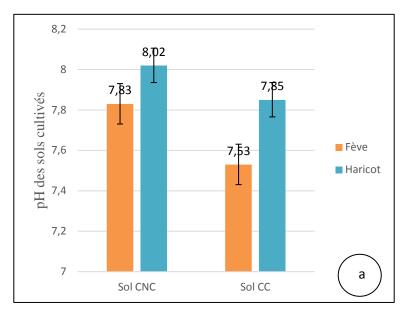
Figure 12 : La racine de la fève non contaminée après le rinçage (Originale, 2017)

III.2. Effets des hydrocarbures sur le sol

Pour évaluer les effets des hydrocarbures sur le sol, les analyses suivantes ont été effectuées sur le sol cultivé par la fève et le haricot et le sol témoin.

III.2.1. pH du sol cultivé par la fève et le haricot

Les résultats concernant le pH moyen des sols non contaminé et contaminé cultivés avec la fève et le haricot sont illustrés dans la figure 13.



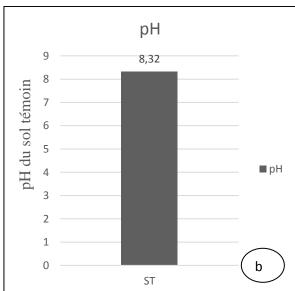


Figure 13: pH du sol cultivé par les deux espèces et du sol témoin (a= sol non contaminé ; b= sol contaminé)

Les résultats de nos analyses montrent que les sols sont classés soit en sol légèrement alcalin notamment SNC cultivé par la fève (7.83), le SC cultivé par la fève (7.53) et le SC cultivé par le haricot (7.85), soit en sol moyennement alcalin a savoir le SNC cultivé par le haricot (8.02) et le sol témoin (8.32) selon les normes d'interprétation (Annexe III).

Les résultats de l'analyse de la variance montrent qu'il ya une différence hautement significative pour le facteur sol (P=0.0015048) et une différence très hautement significative pour le facteur espèce sol (P=0.0008371).Par contre l'interaction de ces deux facteur est non significative (Tableau VIII).

Tableau VIII: Analyse de la variance pour le pH des sols cultivés

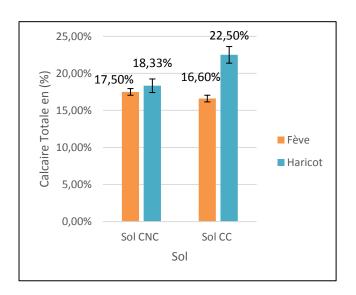
Source de	DLL	SC	CM	F	P
variation					
	1	0,166852	0,166852	22,2655	0,0015048**
Sol (facteur 1)					
	1	0,201502	0,201502	26,8894	0,0008371***
Espèce (facteur 2)					
	1	0,011719	0,011719	1,5638	0,2464453
Sol*espèce					
	8	0,059950	0,007494		
Résiduels					

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.4) concernant le pH pour le facteur sol a donné deux groupes homogènes, le groupe a contient le sol non contaminé avec un pH moyen de 7.928 et le groupe b contient le sol contaminé avec un pH moyen de 7.692.

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.4) concernant le pH pour le facteur espèce montrent qu'il existe deux groupes homogènes, le groupe a qui contient *Phaseolus vulgaris* avec un pH moyen de 7.94 et le groupe b qui contient *V. faba* avec un pH moyen de 7.68.

III.2.2. Calcaire total du sol cultivé

La figure 14 représente le taux de calcaire total moyen des sols cultivés par les deux espèces.



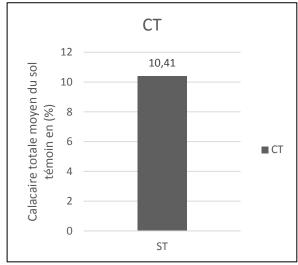


Figure 14: Taux du calcaire total des sols cultivés par les deux espèces et du sol témoin

En comparant nos résultats aux normes d'interprétation (Annexe III) nous pouvons classer les sols contaminés et non contaminés cultivés par les deux espèces (fève et haricot) dans la classe des sols modérément calcaires avec des valeurs variant entre 16.60 et à 22.50%, et le sol témoin dans la classe des sols faiblement calcaire avec un taux de 10.41%.

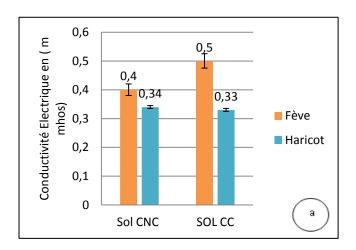
Les résultats de l'ANOVA pour le calcaire total montrent qu'il n'y a pas de différence significative pour les deux facteurs, avec une probabilité P=0.3886 pour le facteur sol et P=0.1057 pour le facteur espèce. L'interaction des deux facteurs est également non significative (Tableau IX).

Tableau IX : Analyse de la variance pour le calcaire total des sols cultivés

Source de	DLL	SC	CM	F	P
variation					
	1	8,333	8,333	0,8312	0,3886
Sol (facteur 1					
	1	33,333	33,333	3,3247	0,1057
Espèce (facteur 2)					·
	1	18,750	18,750	1,8701	0,2086
Sol*espèce					
	8	80,208	10,026		
Résiduels		•			

III.2.3. Conductivité électrique des sols cultivés par les deux espèces

Les résultats de la conductivité électrique des sols cultivés par la fève et le haricot sont présentés dans la figure 15.



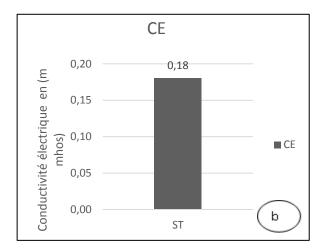


Figure 15 : Conductivité électrique moyenne des sols cultivés par les deux espèces et du sol témoin (a= fève ; b= haricot)

D'après nos résultats rapportés par la figure 15 et selon les normes d'interprétation (Annexe III), tous les sols sont non salés avec des valeurs variables 0.18 mmhos sol témoin, 0.4 mmhos SNC cultivé par la fève, 0.34 mmhos SNC cultivé par le haricot, 0.5 mmhos SC cultivé par la fève et 0.33 mmhos SC cultivé par le haricot.

Les résultats de l'analyse de la variance montrent qu'il ya une différence hautement significative pour le facteur espèce (P=0.0070044) et une différence non significative pour le facteur sol (P=0.206662).L'interaction des deux facteurs est non significatif (Tableau X).

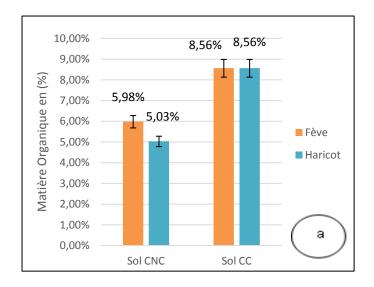
Tableau X : Analyse de la variance pour la conductivité électrique des sols cultivés

Source de	DLL	SC	CM	F	P
variation					
	1	0,005633	0,005633	1,8883	0,206662
Sol (facteur 1)		,		,	
	1	0,038533	0,038533	12,9162	0,007044**
Espèce (facteur 2)		,		,	
	1	0,009633	0,009633	3,2291	0,110064
Sol*espèce		,	,	,	
	8	0,023867	0,023867		
Résiduels		,	,		

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.4) concernant la conductivité électrique pour le facteur espèce montrent qu'il existe deux groupes homogènes, le groupe a qui contient *V. faba* avec une moyenne de0.4533 mmhos et le groupe b qui contient *Phaseolus vulgaris* avec une moyenne de 0.34 mmhos.

III.2.4. Matière organique des sols cultivés par les deux espèces

Le taux de la matière organique dans les sols cultivés par les deux espèces et du sol témoin sont présentés dans la figure 16.



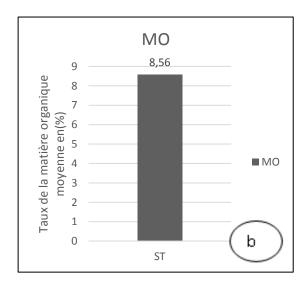


Figure 16 : Taux de la matière organique dans les sols cultivés par les deux espèces et du sol témoin (a= sol non contaminé ; b= sol contaminé)

La teneur en matière organique des sols analysés est comprise entre 5.03 et 8.56. Les taux les plus élevés sont enregistrés pour les trois sols contaminés (SC cultivé par la fève, SC cultivé par le haricot et SC non cultivé) atteignant 8.56. Selon les normes d'interprétation (Annexe III), ces derniers appartiennent à la classe des sols à teneur élevée en matière organique.

Concernant le sol non contaminé, nous avons enregistré un taux de 5.98% pour le SNC cultivé par la fève et un taux légèrement inférieur pour le SNC cultivé par le haricot avec une valeur de 5.03%, selon les normes d'interprétation (Annexe III) ces derniers appartiennent à la classe des sols à teneur élevée en matière organique.

Les résultats de l'analyse de la variance montrent qu'il ya une différence très hautement significative pour les trois facteurs : sol, espèce et l'interaction sol*espèce avec P=3.198 10⁻¹³, P=6.041 10⁻⁷ et P=6.041 10⁻⁷ respectivement (Tableau XI)

Tableau XI: Analyse de la variance pour la matière organique des sols cultivés

	DDL	SC	CM	F	P value
Source de					
variation					
	1	27,6033	27,6033	7685,38	3,198 10 ⁻¹³ ***
Sol (facteur 1)		·			
	1	0,7203	0,7203	200,55	6,041 10 ⁻⁷ ***
Espèce (facteur 2)					
	1	0,7203	0,7203	200,55	6,041 10 ⁻⁷ ***
Sol*espèce		ŕ	ŕ		
	8	0,0287	0,0036		
Résiduels		•			

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.4), concernant le taux de la matière organique pour le facteur sol, a donné deux groupes homogènes, le groupe a contient le sol non contaminé avec une moyenne de 8.56% et le groupe b contient le sol contaminé avec une moyenne de 5.527%.

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.4), concernant le taux de la matière organique pour le facteur espèce, montre qu'il existe deux groupes homogènes, le groupe a qui contient *V. faba* avec une moyenne de 7.288%, le groupe b qui contient *Phaseolus vulgaris* avec une moyenne de 6.798%.

Le test de Newman et Keuls (Annexe II.4), concernant le taux de la matière organique pour le facteur sol*espèce, a donné trois groupes homogènes, le groupe a regroupe *V. faba* et Phaseolus *vulgaris* cultivés dans le sol contaminé avec une moyenne de 8.56% pour les deux sols. Le groupe b contient *V. faba* du sol non contaminé avec une moyenne de 6.017%, et le groupe c contient *Phaseolus vulgaris* de sol non contaminé avec une moyenne de 5.037%.

III.3. Analyse microbiologique du sol

Les résultats du dénombrement sur gélose nutritive obtenus pour les différentes dilutions a permis d'avoir une idée sur la charge bactérienne du sol non pollué, et du sol pollué ainsi que de sa diversité. Les valeurs sont rapportées dans les tableaux suivants :

Tableau XII: Dénombrement des colonies dans le sol Témoin.

Dilutions	L'observation a l'œil nu
D.1. 1. 401	
- Dilution 10 ⁻¹	Aspect cotonné ; grosse colonie ;
	Aspect filamenteux
	Présence des bulles d'air
- Dilution 10 ⁻¹	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻²	Aspect filamenteux;
	Présence de vers de terre
- Dilution 10 ⁻²	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻³	Aspect cotonné;
	Aspect filamenteux;
	Présence des bulles d'air
- Dilution 10 ⁻³	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻⁴	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻⁴	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻⁵	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻⁵	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻⁶	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻⁶	Aspect filamenteux;

Tableau XIII : Dénombrement de la microflore dans le sol non contaminé

Dilutions	L'observation a l'œil nu
- Dilution 10 ⁻¹	Aspect cotonneux
- Dilution 10 ⁻¹	Aspect cotonneux
- Dilution 10 ⁻²	Aspect cotonneux;
	La présence de vers de terre
- Dilution 10 ⁻²	Aspect cotonneux;
- Dilution 10 ⁻³	Aspect cotonneux;
- Dilution 10 ⁻³	Aspect cotonneux;
- Dilution 10 ⁻⁴	Aspect cotonneux;
- Dilution 10 ⁻⁴	Aspect cotonneux;
	Grosse colonie
- Dilution 10 ⁻⁵	Pas d'aspect cotonneux ;
- Dilution 10 ⁻⁵	Aspect cotonneux;
- Dilution 10 ⁻⁶	Aspect cotonneux;
- Dilution 10 ⁻⁶	Aspect cotonneux

La figure 17 représente l'aspect macroscopique de sol cultivé non contaminé

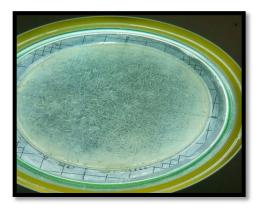


Figure 17 : Sol cultivé non contaminé (originale, 2017)

Tableau XIV: Dénombrement de la microflore dans le sol contaminé et cultivé

Dilutions	L'observation a l'œil nu
- Dilution 10 ⁻¹	Aspect filamenteux;
	Suspicions Pseudomonas et actinomycètes
- Dilution 10 ⁻¹	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻²	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻²	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻³	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻³	Aspect filamenteux;
	petites colonies
- Dilution 10 ⁻⁴	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻⁴	Aspect filamenteux;
	petites colonies
- Dilution 10 ⁻⁵	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻⁵	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻⁶	Aspect filamenteux;
- Dilution 10 ⁻⁶	Aspect filamenteux;

La figure 17 représente l'aspect macroscopique de sol cultivé non contaminé



Figure 18 : Sol cultivé contaminé (Originale, 2017)

III.4. Discussion

D'après les résultats de l'effet du pétrole brut sur le rendement des deux espèces *V. faba*, et *P vulgaris*, nous avons remarqué qu'il n'y avait pas de différence significative entre les sols non contaminé et contaminé pour la biomasse aérienne. Par contre, pour la biomasse racinaire, le taux de levée, la hauteur de la partie aérienne, le nombre de feuille et la biomasse racinaire nous avons remarqué une différence significative entre les sols contaminés et non contaminé. Cela indique l'effet toxique du pétrole brut sur le rendement de la plante.

III.4.1. Hauteur de la partie aérienne

La hauteur de la partie aérienne des deux espèces a été affectée par la présence du pétrole brute dans le sol à une concentration de 5% présentant des hauteurs tés minimes. Nous avons remarqué que la hauteur la plus faible est enregistrée pour *P vulgaris*. Selon Gouhier (2014), les effets toxiques varient selon la physiologie de chaque espèce.

D'après CHAINEAU *et al.* (2000), la hauteur des plantes diminue avec l'augmentation de la concentration en hydrocarbures.

III.4.2. Nombre de feuilles

L'effet toxique du pétrole brut a été bien exprimé chez les feuilles des deux espèces, présentant des jaunissements et la réduction de la surface foliaire des feuilles de *Phaseolus vulgaris* et *V. faba*. Ces résultats peuvent être dus aux changements des propriétés physico-chimiques du sol qui influent sur le développement du système foliaire. NJOKU *et al.* (2009) notent que la pollution du sol par le pétrole brut entraine une faible infiltration de l'eau dans le sol, ce qui va affecter le développement des feuilles.

III.4.3. Biomasse aérienne

Concernant la biomasse aérienne, nos résultats sont similaires à ceux obtenus par NAIT ABDELAZIZ (2014) pour *V. faba* et *Medicago sativa* et ceux obtenus par SALMI et SALMI (2017) pour *V. faba*, *Chlorophytum. comosum* et *C. comosum vittatum* qui ont constaté que la contamination par les hydrocarbures n'a pas d'effet sur la biomasse aérienne

Ces résultats diffèrent, de ceux obtenus par CHIBANE (2013) pour *V. faba*, qui a rapporté une diminution de la biomasse aérienne sous l'influence du pétrole brut. Ils sont également différents de ceux obtenus par CHAINEAU *et al.* (1997) qui montrent que l'effet toxique des

hydrocarbures sur la biomasse végétale s'exprime par un retard significatif de la croissance, cette diminution se traduit par la réduction du poids sec.

III.4.4. Biomasse racinaire

D'après nos résultats, la biomasse racinaire des deux espèces a été affectée par la présence du pétrole brut dans le sol, cela peut être dû à l'effet des carburants sur la croissance des racines ou bien au changement des propriétés du sol. NORINI (2007) note que la diminution de la croissance racinaire peut être due aux propriétés hydrophobes des hydrocarbures qui peuvent limiter l'effet bénéfique de l'association plante-microorganismes. Cette atteinte des racines ne permet pas à la plante d'augmenter sa surface de contact avec son milieu de culture pour optimiser sa nutrition minérale.

Nos résultats concernant la biomasse racinaire sont similaires à ceux obtenus par NAIT ABDELAZIZ (2014) pour *V. faba* et *sativa*.

L'effet du pétrole brut sur les propriétés physico-chimiques des sols traités a été exprimé sur tous les paramètres sauf le calcaire total.

III.4.5. Le Potentiel d'hydrogène

D'après nos résultats, nous pouvons remarquer que le pH des sols cultivés est inférieur au pH du sol témoin. Cette diminution de pH peut être due aux différentes réactions biochimiques des bactéries qui entrainent l'assimilation des composés pétroliers, avec la synthèse des acides gras porteurs de groupement COOH et des différents acides, produits par oxydation de la MO ou fermentation dans le sol causant ainsi leur acidification. D'un autre côté ces groupements représentent des métabolites intermédiaires de la biodégradation des hydrocarbures avant la minéralisation complète par les microorganismes (MARGESIN et SCHINNER, 2001).

Selon MOREL (1990), le pH du sol est modifié par la présence de racines vivantes et dépend de la plante et de son environnement physico-chimique, comme la forme de la nutrition azotée et la concentration en éléments nutritifs.

D'après OMAFRA (2011) in LAMBOT(2011), le niveau de pH peut baisser pour diverses raisons :

- Les plantes font disparaitre les éléments nutritifs

- Le lessivage ou le déplacement de l'eau dans le sol fait disparaître les éléments nutritifs
- La décomposition de la matière organique

III.4.6. Conductivité électrique

Nos résultats sur la conductivité électrique des sols (SNC cultivés par la fève et le haricot, SC cultivés par ces derniers et le SC non cultivé qui est le témoin), montrent que les sols sont non salés.

Selon MALLOUHI (1989), la salinité diminue le nombre de micro-organismes dans le sol. Elle ralentit les processus de l'humification et de la minéralisation des matières organiques. En effet, de tous les processus biologiques, la nitrification est la plus touchée, ainsi que le dégagement de CO₂. Les fortes salinités constituent donc une barrière naturelle pour la biodégradation (BERTRAND *al.*, 1993).

III.4.7. Calcaire total

Concernant le taux de calcaire, nous avons classé les sols contaminés et non contaminés cultivés par les deux espèces dans la classe des sols modérément calcaires, et le sol témoin dans la classe des sols faiblement calcaires.

Les résultats obtenus ont montré que la contamination par le pétrole brut n'a pas d'effet sur le taux du calcaire dans le sol.

III.4.8. Matière organique

Selon nos résultats, le taux de matière organique dans le sol témoin et les sols contaminés cultivés par les deux espèces est élevé par rapport aux sols non contaminés cultivés. Cela peut être dû à la présence des hydrocarbures. BERGE (1986) note un enrichissement en matière organique des sols contaminés en hydrocarbures. De même SOLANO *et al.* (2001) rapportent que les produits pétroliers et leurs dérivés constituent les principaux polluants organiques des sols.

Ces résultats concordent avec ceux de NEMER (2015), qui a constaté une teneur en matière organique très importante à la source de la pollution.

III.4.9.Microflore du sol

D'après l'observation macroscopique, le sol non contaminé et le sol contaminé contiennent une grande variété de microorganismes avec l'apparition d'un nombre très élevé de vers de terre dans le sol non contaminé comparé au sol contaminé, qui présente un nombre beaucoup plus réduit de vers de terre.

L'étude a révélé la présence de bactéries, de champignons et de levures. Ces êtres vivants dans les sols pollués jouent un rôle très important en attaquant et en décomposant la matière organique (les hydrocarbures) puis en contribuant à leur humification.

La diversité de ces microorganismes est essentiellement due au fait que cette étude se base sur le sol, habitat naturel des êtres vivants. Cette diversité nous a probablement permis de dépolluer le sol des polluants tels que les hydrocarbures pétroliers (PAUL et *al.*, 2010).

Nous pouvons expliquer la présence des vers de terre par Les études de BONNARD., (2010), ont mis en évidence que la mesure des dommages à l'ADN des cœlomocytes (cellules immunitaires) des vers de terre est un biomarqueur pertinent dans l'évaluation de la génotoxicité des polluants des sols. Ce biomarqueur de génotoxicité s'est révélé plus sensible que la survie et au moins aussi sensible que la reproduction, qui sont deux paramètres classiquement étudiés chez les vers de terre.

Ce biomarqueur de génotoxicité pourrait être utilisé en tant qu'indicateur précoce de perturbations physiologiques, même si le lien entre les dommages à l'ADN et les répercussions sur la reproduction des vers de terre nécessite des recherches ultérieures.

Conclusion générale

Ce travail est réalisé dans le but d'évaluer l'effet de deux espèces légumineuses la fève (*Vicia faba*) et le haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur les paramètres physicochimiques et microbiologiques des sols cultivés non contaminé, un sol cultivé contaminé par les hydrocarbures pétroliers à 5% et un témoin.

De l'étude, les conclusions suivantes ont été tirées :

-Dans un premier temps nous avons étudié et testé la sélectivité des graines en germination des deux espèces (fève et haricot) cultivées dans un sol non contaminé et un sol contaminé par les hydrocarbures pétroliers, qui ont la capacité de tolérance des graines a cause de stress pétrolièr. On résultat un taux et une vitesse de germination très bonne pour *Vicia faba* et bonne pour *Phaseolus vulgaris*.

-Le pétrole provoque dans le sol la réduction de la croissance et le développement des plantes en général. C'est la partie aérienne qui est la plus affectée. Ceci peut être considéré comme un signe de résistance au stress. Les hydrocarbures provoquent aussi, au niveau de feuillage une réduction de la longueur et nombre des feuilles. Au niveau de la partie racinaire la présence du pétrole diminue le nombre de racines et leur longueur.

-Les matières fraiche et sèche diminuent avec la présence de pétrole dans le sol notre résultat montre que *Vicia faba* et *Phaseolus vulgaris* contiens presque le même rapport en matière sèche et fraiche.

-La plupart des paramètres physico-chimiques sont impactés et les résultats de nos analyses révèlent une structure en gradient. Des valeurs très élevées des différents paramètres sont constatées dans le sol cultivé contaminé et le témoin avec une diminution dans le sol cultivé non contaminé. Il s'agit de la matière organique, le calcaire total et la capacité d'échange cationique. Néanmoins, certains paramètres font exception, il s'agit de pH qui ne présente pas une tendance particulière d'évolution.

-L'étude du sol cultivé contaminé par les hydrocarbures et le témoin a révélé la présence de nombre élevé des microorganismes avec l'apparition des vers de terre dans le sol non contaminé. Ces êtres vivants dans les sols pollués jouent un rôle très important en attaquant et en décomposant la matière organique (les hydrocarbures) puis en contribuant à leur humification.

Conclusion générale

En perspective, il serait intéressant de comprendre les relations sol/microorganisme/plante vis-à-vis des hydrocarbures, en particulier les relations plante-microorganisme devront être étudiées.

En fin, l'étude à montre que les deux espèces *Vicia faba* et *Phaseolus vulgaris* ont utilisé presque la même stratège de réponse au stresse pétrolier avec des fréquences différentes. Ces critères peuvent être utilisés comme paramètre de sélection pour utiliser ces plantes dans la dépollution (phytoremédiation) des sites contaminés par les hydrocarbures pétroliers.

Conclusion générale

- **ABBIA S. et GUITOUN L., 2014 :** Les méthodes de traitement des sols pollués par les hydrocarbures pétroliers, diplôme de Licence, université kasdi merbah ouargla. P.1.
- **ABDELLY** C., 2007. Bioremediation / Phytoremediation. Institut supérieur de l'éducation et de la formation continue. Universités de TUNIS.32p.
- ALI AHMED H. et BELKADI H., 2006. Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes et micro-organismes du sol et essai de phytoremédiation. Mémoire d'Ingénieur d'état en biologie U.M.M.T.O.73p.
- **ANONYME**, 2001. Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance Document Washington, DC. ITRC and Phytotechnology teams.124p.
- APG., 2009. Birgitta Bremer, Kåre Bremer, Michael F. Fay, Douglas E. Soltis, and Pamela S. Soltis, avec la contribution de: Arne A. Anderberg, Michael J. Moore, Richard G. Olmstead, Paula J. Rudall, Kenneth J. Sytsma, David C. Tank, Kenneth Wurdack, Jenny Q.- Y. Xiang and Sue Zmarzty. Classification botanique.
- **BABOUINEAU L., LAMY Y., ETCOLLAS P**., 2005. Phytoremédiation ou l'utilisation des plantes pour la dépollution et l'épuration des eaux usées. le rôle d'eau. Vol.124. p : 8-15.
- **BERT V., DERAM A**., 1999. Guide des phytotechnologies : utilisation des plantes dans la dépollution et la réhabilitation des sites contaminés par les métaux lourds, France, Environnement et Développement alternatif. p23
- BIANCHI M., MARTY D., BERTRAND J. C., GAUTHIER M. J., 1988. Microorganismes dans les écosystèmes océaniques. Masson (Paris), chapitre 13. p : 343-385.
- **BIZILY S.P., RUGH C.L., SUMMERS A.O., MEAGHER R.B.**, 1999. Phytoremédiation of methylmercury pollution: expression in *Arabidopsis thaliana* confers resistance to organomercurials. Proceedings of the National Academy of Sciences. Vol. 96. p: 6808-6813.
- BOUDERHEM A., 2011. Utilisation des souches bactériennes telluriques autochtones dans la biodétection et la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures. Mémoire de Magister. Universite Kasdi Merbah-Ouargla 50p.
- BOUSSABOUA H., 2005. Elément de microbiologie. 2éme édition :161-166.
- **BRINK M., BELAY G**., 2006. Ressources végétales de l'Afrique tropicale 1 : céréales et légumes secs, Prota, Pays bas. p: 221-223.

- CALVET R., 2003.le sol propriétés et fonctions (Tome1), édition France agricole.22-26p
- CASDAR (Compte d'Affectation Spécial pour le Développement Agricole et Rural), 2011. Améliorer l'Efficacité Agro-environnementale des Systèmes Agroforestiers. France. 20p.
- **CHAINEAU C.H., MOREL J.L., OUDOT J**., 1997. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. J. Environ. Quali. Vol. 26. p: 1478-1483.
- CHAINEAU C.H., MOREL J.L., OUDOT J., 2000. Biodegradation of fuel oil Hydrocarbons in the rhizosphere of maize. Journal of Environmental Quality. Vol. 29. pp: 569-578.
- **CHAUX C., FOURY C.,** 1994. Production légumière : légumineuses potagères, légumes fruits, Lavoisier, Paris, pp :4-8.
- **CHIBANE** G., 2013. Caractérisation des hydrocarbures extraits de sols dépollués par la technique de phytoremédiation. Mémoire de Magister. U.M.M.T.O. 73 p.
- **CLAUDEGUIBET J.**, 1997. Carburant et moteurs technologie, énergie, environnement. édition techinip, Paris 2.p45.
- **COLIN F.**, 2000 : Pollution localisé des sols et sous-sols par les hydrocarbures et les solvants chlorés. Edition Tec et Doc. Paris. 417p.
- COLOMBANO S., SAADA A., GUERIN V., BATAILLARD P., BELLENFANT G.,
 BERNGER S., TTUBE D., BLANC C., ZORNIG C., GIRARDEAU I., 2010. Quelle technique pour quel traitement? –analyse couts-bénéfices (rapport final BRGM1RP-860S-FR). Bureau de recherche géologique et minière (BRGM). 403p.
- **CUNNINGHAM S. D., BERTI W.R.**, 1996. Remediation of contaminated soil with green plants; an overview. In Vitro Cell. Dev. Biol. Vol.29.p:207-212.
- **DECHAMP C., MEERTS P.**, 2003. La phytoremédiation : Panacée pour l'environnement ou menace pour la biodiversité. *Les Naturalistes belges*, n°82. p : 135- 148.

- DOYLE C., 2008. La Phytoremédiation: une solution à la contamination des sites de traitement du bois. Mémoire en vue de l'obtention du grade maître en environnement. Université de Sherbrooke Canada. 94p.
- **DUC G.**, 1997. Faba bean (*Vicia faba*). Field Crops Research. Vol. 53. p: 99-109.
- **DUCHAUFOUR P.,** 1965. Précis de Pédologie. 2eme éd. Masson, Paris, 481p.
- **DUCHAUFOUR P.**, 1994. Pédologie : sol, végétation, environnement. MASSON, p 276
- **FATTAL**., 2008. La pollution des côtes par les hydrocarbures .Edition Presse universitaire de Rennes p : 81-85.
- GABETS S., 2004. Remobilisation D'hydrocarbures aromatiques, polycycliques(HAP) présents dans les sols contaminés d'origine biologique. Thèse de doctorat Université Limoges
- GERARM C., CHRISTAINW J., CLAUDE, REMYJ.A., CQUES B., LOUIS. Sol et environnement. 2eme édition p : 322
- GOBAT J.M., ARGNO M., MATTHEY W., 2010. Le sol vivant Bases de pédologie-Biologie des sols.3eme édition revue et augmentée.p165
- **GOUHIER V**., 2014. Résilience des écosystèmes après un déversement d'hydrocarbures. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. 57p.
- **HEIDER J., JONES D.M., ROLING W.F., 1999.** Anaerobic bacterial metabolism of hydrocarbons. FEMS. Microbiology. Reviews. Vol. 22. p: 459-473.
- **IBRAHIM MIRSAL A.**, 2004.Soil Pollution.Origine, Monitoring and remédiation.Spriner Verlag Berlin Hiedelberg.
- **JEMAL F., GHORBAL M. H.**, 2002. Phytoremédiation, *Revue H.T.E*, n°122. p. 49-60.
- **JYOTI L., SMITA C.**, 2012.Effect of Diesel Fuel Contamination on Seed. Germination and Growth of Four Agricultural Crops. Universal Journal of Environmental Reserved and Technology ALL Rights Euresian Publication.p7.
- **KOLLER E.**, 2004. Traitement des pollutions industrielles. Eau. Air. Déchets. Sols. Boues. Edt Dunod, Paris. Série Environnement et sécurité. L'usine nouvelle. 424p.

.

- KAMATH R., RENTZ J.A., SCHNOOR J.L., ALVAREZ P.J., 2004. Phytoremédiation
 of hydrocarbon-contaminated soils: principle and application. In Rvazquez- du chalt and R.
 Quintero Ramirez (Eds). Petroleum Biotechnology. p119
- **LECOMTE P.**, **1995.** Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines. Edition Lavoisier, TEC & DOC .198p.
- LECOMTE P., 1998. Les sites pollués : Traitement des sols et des eaux souterraines. TEC & DOC, Lavoisier, Paris.p95
- LEN J., GAWEL PH. D., 2001. Guide for remediation of salt/hydrocarbon impacted soil.p31
- MARCHAL N. ET BOURDON J. L., 1982. Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Ed. Doin, Paris.p482
- MASTEN S. J. DAVIES S. H. R., 1997. Efficacy of in-situ zonation for the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soils, J. Contam. Hydrol. Vol. 28. p. 327-335.
- **McGrath S.P.**, 1998. Phytoextraction for Soil Remediation. In: Brooks, R.R. (Ed.). Plants those hyperaccumulate heavy metals. CABI Publishing, Wallingford. pp: 261-287.
- NAIT ABDELAZIZ B., 2014 : Evaluation de la toxicité de différents carburants vis-à-vis de quelques légumineuses. Mémoire de Magister. U.T.M.M.O. 81 p.
- **NEFF J.M.**, **(1979).** Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environement, source, fat and biological effet, Applied Science, Essex, England, 262p.
- **NORINI M. P.**, 2007 : Ecodynamique des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) et des communautés microbiennes dans des sols à pollution mixte (HAP, métaux) avant et après traitement par biopile et par désorption thermique : Influence de la rhizosphère et de la mycorhization. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy I. 243p.
- OMAFRA, 2011. Gestion du sol Propriétés chimiques du sol.p55
- OULD RABAH N., 2011: Essai de phytoremédiation des sol contamines par les hydrocarbures. Mémoire de magister en chimie de l'environnement. Université de Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.p27

- PAULINE W.KABORE-OUEDRAOGO, PAUL W.SAVADOGO, CHEIK A.
 T.OUATTARA, ALY SAVADOGO ET ALFRED S.TRAORE., 2010.Etude de la biodepollution de sols contaminés par le Hydrocarbures au Burkina Faso. Institut de
 l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA) p8.
- **PILON-SMITS E.**, 2005. Phytoremédiation, *Annual Review of Plant Biology*, Vol. 56. p: 15-39.
- **PILON-SMITS E., PILON M.**, 2000. Breeding mercury-breathing plants for environmental cleanup. *Trends in Plant Science*. Vol. 5. n°6.p: 235-236
- **ROCHER V., MOILLERON R**., 2003. Identification des sources d'hydrocarbures en milieu urbain : approche automatisée (Centre d'Enseignement et de Recherche sur l'Eau, la ville et l'environnement, Université paris XII-val de Marne, Créteil).
- SASSON A., 1967. Recherche ecophysiologique sur la flore bactérienne du sol des régions arides du Maroc, RABAT. 277p.
- **SCRIBAN R.**, 1999. Biotechnologie : restauration par voie biologique des sols contaminés par les polluants organique 5ème édition. Edition Lavoisier.
- **SENOU I., 2014.** Phytoextraction du cadmium, du cuivre, du plomb et du zinc par cinq espèces végétales cultivées sur des sols ferrugineux tropicaux et vertique au Burkina Faso (Afrique de l'ouest).
- SOLANO-SERENA1 F., MARCHAL R., VANDECASTEELE J.P., 2001. Biodégradabilité de l'essence dans l'environnement : de l'évaluation globale au cas des hydrocarbures récalcitrants. Oil & Gas Science and Technology. Vol. 56, N° 5. p. 479- 498
- **SOLTNER D.**, 1994. Les bases de la production végétale. Tome 1. Le sol. 20éme Edition 467 .Vol. 56. pp. 15-39.
- STENGEL P.2009.Le sol. Editorial. Institut des sciences de la terre d'orléans.p75.
- TARAYRE. C., 2012. Bioremédiation de sols pollués aux hydrocarbures. Editions Universitaires Européennes, p.116
- **ZAGHOUNA O.,** 1991. The situation of faba bean (*Vicia faba* 1.) in Algeria. Options méditerranéennes. N°10. pp: 123-125.

http://www.omafra.gov.on.ca/french/environment/soil/chemical.htm, consulté le 27/05/11.

Annexe I Analyses physicochimiques sur le sol de l'ITMAS à l'état initial pH

	Sol non contaminé	Sol contaminé à 5% du pétrole brut
Pot 01	8.30	8.33
Pot 02	8.28	8.38
Pot 03	8.12	8.40
La moyenne (X)	8.23	8.37

Conductivité électrique

	Sol non contaminé	Sol contaminé à5% du pétrole brut
Pot 01	0.22 m mhos	0.19 m mhos
Pot 02	0.21 m mhos	0.16 m mhos
Pot 03	0.20 m mhos	0.16 m mhos
La moyenne (X)	0.21 m mhos	0.17 m mhos

Taux de calcaire total

	Sol non contaminé	Sol contaminé à 5% du pétrole brut
Pot 01	21.25%	18.75%
Pot 02	18.75%	31.25%
Pot 03	31.25%	36.25%
La moyenne (X)	23.75%	28.75%

Taux de la matière organique

	Sol non contaminé	Sol contaminé à 5% du pétrole brut
Pot 01	6.02%	8.56%
Pot 02	5.91%	8.56%
Pot 03	6.02%	8.56%
La moyenne (X)	5.98%	8.56%

Taux de germination pour les deux espèces (fève et haricot)

Espèce	La	fève	Le	haricot
Le sol	SNC	SC	SNC	SC
Taux de germination (%)	98%	96%	64%	42.6%

Analyses physicochimique sur le sol après culture

pН

		La fève	Le haricot	
	Pot 01	7.9	Pot 01	8.1
Sol NCC	Pot 02	7.78	Pot 02	8
	Pot 03	7.81	Pot 03	7.98
La moyenne	X	7.83	X	8.02
	Pot 01	7.47	Pot 01	7.8
Sol CC	Pot 02	7.55	Pot 02	8.01
	Pot 03	7.57	Pot 03	7.75
La moyenne	X	7.53	X	7.85

Conductivité électrique

	La fève			Le haricot
Sol NCC	Pot 01	0.44 m mhos	Pot 01	0.35 m mhos
	Pot 02	0 .34 m mhos	Pot 02	0.37 m mhos
	Pot 03	0.43 m mhos	Pot 03	0.32 m mhos
La moyenne	X	0.40 m mhos	X	0.34 m mhos
Sol CC	Pot 01	0.51 m mhos	Pot 01	0.37 m mhos
	Pot 02	0.46 m mhos	Pot 02	0.24 m mhos
	Pot 03	0.54 m mhos	Pot 03	0.39 m mhos
La moyenne	X	0.50 m mhos	X	0.33 m mhos

Taux de calcaire total

		La fève	Le haricot	
Sol NCC	Pot 01	22.5%	Pot 01	17.5%
	Pot 02	16.25%	Pot 02	21.25%
	Pot 03	13.75%	Pot 03	16.25%
La moyenne	X	17.5%	X	18.33
Sol CC	Pot 01	18.75%	Pot 01	22.5%
	Pot 02	17.5%	Pot 02	25%

Matière organique

	La fève		Le haricot	
	Pot 01	5.91%	Pot 01	4.97%
Sol NCC	Pot 02	6.02%	Pot 02	5.07%
	Pot 03	6.12%	Pot 03	5.07%
La moyenne	X	5.98%	X	5.03%
	Pot 01	8.56%	Pot 01	8.56%
Sol CC	Pot 02	8.56%	Pot 02	8.56%
	Pot 03	8.56%	Pot 03	8.56%
La moyenne	X	8.56%	X	8.56%

Biomasse aérienne

	La fève		Le haricot	
	Pot 01	0.624g	Pot 01	1.950g
Sol NCC	Pot 02	5.044g	Pot 02	1.549g
	Pot 03	5.330g	Pot 03	2.481g
La moyenne	X	3.666g	X	1.99g
	Pot 01	4.452g	Pot 01	0
Sol CC	Pot 02	0.872g	Pot 02	0.300g
	Pot 03	2.323g	Pot 03	0
La moyenne	X	2.549g	X	0.1g

Biomasse racinaire

	La fève		L'haricot	
Sol NCC	Pot 01	0.746g	Pot 01	0.210g
	Pot 02	0.868g	Pot 02	0.148g
	Pot 03	0.776g	Pot 03	0.590g
La moyenne	X	0.79g	X	0.316g
Sol CC	Pot 01	0.630g	Pot 01	0
	Pot 02	0.071g	Pot 02	0.085g
	Pot 03	0.049g	Pot 03	0
La moyenne	X	0.25g	X	0.028g

Hauteur moyenne de la partie aérienne

	La fève		Le ha	aricot
	SNC	SC	SNC	SC
1 ^{er} semaine	6.6 cm	1.66 cm	5.83 cm	1.82 cm
2 ^{ème} semaine	13.50 cm	9.20 cm	8.20 cm	2.10 cm
3 ^{ème} semaine	28.84 cm	14.55 cm	16.38 cm	2.53 cm
4 ^{ème} semaine	53.43 cm	21.57 cm	39.74 cm	4.20 cm
5 ^{ème} semaine	78.43 cm	26.33 cm	62.24 cm	5.16 cm
6 ^{ème} semaine	92.62 cm	40.33 cm	72.50 cm	7 .29 cm
7 ^{ème} semaine	98.91 cm	47.46 cm	74.44 cm	9.44 cm
8 ^{ème} semaine	100 cm	49.4 cm	76.5 cm	10.43 cm
9 ^{ème} semaine	100.5 cm	54 cm	79.16 cm	11.86 cm
10 ^{ème} semaine	102.20 cm	73.83 cm	83.86 cm	22.25 cm

Nombre moyen de feuilles

	La fève		Le haricot	
	SNC	SC	SNC	SC
1 ^{er} semaine	0	0	0	0
2 ^{ème} semaine	4	1.33	0	0
3 ^{ème} semaine	16.08	7.66	3.33	1
4 ^{ème} semaine	33.10	15.66	4.55	3.21
5 ^{ème} semaine	41.66	19.77	7.18	3.55
6 ^{ème} semaine	56.5	22	13.66	4.55
7 ^{ème} semaine	70.33	23.33	17.66	5.33
8 ^{ème} semaine	68.66	24	18.33	6.66
9 ^{ème} semaine	66.55	24.83	20	8
10 ^{ème} semaine	63.83	25	26	11

Annexe II : Les résultats des analyses statistiques sur logiciel R

1. Les résultats du test Student sur les paramètres physicochimiques du sol à l'état initial

pН

```
One Sample t-test

data: pH[sol]
t = 1853.7, df = 5, p-value = 8.672e-16
alternative hypothesis: true mean is not equal to 0
95 percent confidence interval:
8.278504 8.301496
sample estimates:
mean of x
8.29
```

Conductivité électrique

```
One Sample t-test

data: CE[sol]

t = 96.1509, df = 5, p-value = 2.307e-09

alternative hypothesis: true mean is not equal to 0

95 percent confidence interval:

0.209252 0.220748

sample estimates:

mean of x

0.215
```

Taux de calcaire total

```
One Sample t-test

data: CT[sol]

t = 35.7771, df = 5, p-value = 3.211e-07

alternative hypothesis: true mean is not equal to 0

95 percent confidence interval:

18.563 21.437

sample estimates:

mean of x

20
```

Matière organique

```
One Sample t-test

data: MO[sol]

t = 242.5117, df = 5, p-value = 2.262e-11

alternative hypothesis: true mean is not equal to 0

95 percent confidence interval:

5.901772 6.028228

sample estimates:

mean of x

5.965
```

2. Les résultats des tests ANOVA sur les paramètres physicochimiques

pН

```
Analysis of Variance Table

Response: pH

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

sol 1 0.166852 0.166852 22.2655 0.0015048 **

plante 1 0.201502 0.201502 26.8894 0.0008371 ***

sol:plante 1 0.011719 0.011719 1.5638 0.2464453

Residuals 8 0.059950 0.007494
```

Conductivité électrique

```
Analysis of Variance Table
```

```
Response: CE

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

1 0.005633 0.005633 1.8883 0.206662

plante 1 0.038533 0.038533 12.9162 0.007044 **

sol:plante 1 0.009633 0.009633 3.2291 0.110064

Residuals 8 0.023867 0.002983
```

Matière organique

Analysis of Variance Table

```
Response: MO

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

sol 1 27.6033 27.6033 7685.38 3.198e-13 ***

plante 1 0.7203 0.7203 200.55 6.014e-07 ***

sol:plante 1 0.7203 0.7203 200.55 6.014e-07 ***

Residuals 8 0.0287 0.0036
```

Calcaire total

```
Analysis of Variance Table

Response: pH

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

sol 1 0.166852 0.166852 22.2655 0.0015048 **

plante 1 0.201502 0.201502 26.8894 0.0008371 ***

sol:plante 1 0.011719 0.011719 1.5638 0.2464453

Residuals 8 0.059950 0.007494
```

3. Analyses de l'ANOVA pour la biomasse végétale :

Taux de levée

```
Analysis of Variance Table

Response: TL

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

sol 1 6.7500 6.7500 16.2 0.003815 **

plante 1 24.0833 24.0833 57.8 6.289e-05 ***

sol:plante 1 0.7500 0.7500 1.8 0.216547

Residuals 8 3.3333 0.4167
```

Biomasse aérienne

Analysis of Variance Table

```
Response: BA

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

sol 1 6.7966 6.7966 2.6011 0.14545

plante 1 12.7411 12.7411 4.8762 0.05824

sol:plante 1 0.4520 0.4520 0.1730 0.68840

Residuals 8 20.9035 2.6129
```

Biomasse racinaire

Analysis of Variance Table

```
Response: BR

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

sol 1 0.53341 0.53341 12.4882 0.007688 **

plante 1 0.37950 0.37950 8.8848 0.017581 *

sol:plante 1 0.04687 0.04687 1.0974 0.325444

Residuals 8 0.34170 0.04271
```

Nombre de feuilles

```
Analysis of Variance Table

Response: NbrF

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

sol 1 2633.2 2633.2 11.1371 0.001975 **

plante 1 4628.5 4628.5 19.5767 8.584e-05 ***

sol:plante 1 899.8 899.8 3.8059 0.058888 .

Residuals 36 8511.5 236.4
```

Hauteur de la partie aérienne des deux espèces

```
Analysis of Variance Table

Response: HtrP

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

sol 1 4362.9 4362.9 5.7545 0.02175 *

plante 1 15150.4 15150.4 19.9827 7.486e-05 ***

sol:plante 1 277.7 277.7 0.3662 0.54886

Residuals 36 27294.2 758.2
```

4. Les résultats du test Newman et Keuls pour les paramètres physicochimiques du sol pH (facteur sol)

```
Groups, Treatments and means a NC 7.928 b C 7.692
```

pH (facteur espèce)

```
Groups, Treatments and means a Haricot 7.94 b Fève 7.68
```

Conductivité électrique (facteur espèce)

Groups,	Treatments	and	means
a	Fève		0.4533
b	Haricot		0.34

Matière organique (facteur sol)

Groups,	Treatments	and	means
a	Fève		0.4533
b	Haricot		0.34

Matière organique (facteur espèce)

```
Groups, Treatments and means a Fève 7.288 b Haricot 6.798
```

Matière organique (interaction sol* espèce)

Groups,	Treatments	and	means
a	C:Fève		8.56
a	C:Haricot		8.56
b	NC:Fève		6.017
С	NC:Haricot		5.037

5. Les résultats du test de Newman et Keuls pour la biomasse végétale :

Nombre de feuilles (facteur sol)

```
Groups, Treatments and means
a SNC 26.57
b SC 10.34
```

Nombre de feuilles (facteur espèce)

```
Groups, Treatments and means
a fève 29.21
b haricot 7.7
```

Hauteur de la partie aérienne (facteur sol)

```
Groups, Treatments and means a SNC 50.68 b SC 29.79
```

Hauteur de la partie aérienne (facteur espèce)

```
Groups, Treatments and means
a fève 59.69
b haricot 20.77
```

Biomasse racinaire (facteur sol)

```
Groups, Treatments and means
a NC 0.5563
b C 0.1347
```

Biomasse racinaire (facteur espèce)

```
Groups, Treatments and means
a Fève 0.5233
b Haricot 0.1677
```

Annexe III : les normes d'interprétation des résultats

pH (Baize, 1989)

Valeurs du pH	Qualification	
<4.5	Extrêmement acide	
4.6 à 5	Très fortement acide	
5.1 à 5.5	Fortement acide	
5.6 à 6.75	Faiblement acide	
6.75 à 7.3	Neutre	
7.4 à 7.8	Légèrement alcalin	
7.9 à 8.4	Moyennement alcalin	
8.5 à 9	Fortement alcalin	
>9.1 Très fortement alcalin		

Calcaire Total (Baize, 1989)

Valeurs du calcaire Totale	Qualification
<1%	horizon non calcaire
1 à 5%	horizon peu calcaire
5à 25%	horizon modérément calcaire
25 à 50%	horizon fortement calcaire
50 à 80%	horizon très fortement calcaire
>80%	horizon excessivement calcaire

Matière organique (Baize, 1989)

Matière organique (%)	Qualification du sol	
<1.4	Très pauvre en M.O	
1.4 <m.o<2< th=""><th>Pauvre en M.O</th></m.o<2<>	Pauvre en M.O	
	Argile<22% bien pourvu en M.O	
2 <m.o<3< td=""><td>22%<argile<30% en="" m.o<="" moyennement="" td=""></argile<30%></td></m.o<3<>	22% <argile<30% en="" m.o<="" moyennement="" td=""></argile<30%>	
	Argile>30% pauvre en M.O	
3 <m.o<4< th=""><th>Sol bien pourvu en M.O</th></m.o<4<>	Sol bien pourvu en M.O	
M.O>4	Teneur élevée en M.O	

Conductivité électrique (Baize, 2000)

La conductivité électrique	Qualification du sol
<2.5	Non salé
2.5 à 5	Faiblement salé
5 à 10	Moyennement salé
10 à 15	Salé
15 à 20	Fortement salé
20 à 27.5	Très fortement salé
27.5 à 40	Excessivement salé
<40	Hyper salé