

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques

Département de Biologie Animale et Végétale



# Mémoire



De fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de master en biologie  
Spécialité : Protection de l'Environnement

## Thème

**Effet de la concentration du pétrole brut sur  
la croissance du pois (*Pisum sativum*) et de  
la luzerne (*Medicago sativa L.*)**

**Essai de phytoremédiation**

Présenté par :

M<sup>elle</sup> ZEBICHE Baya.

M<sup>elle</sup> SEMAANI Leyla.

Devant le jury :

Président : M<sup>me</sup> SADOUDI D.

Professeur à l'U.M.M.T.O

Promotrice: M<sup>lle</sup> ALI AHMED S.

M A A à l'U.M.M.T.O

Examineurs: M<sup>me</sup> HEDJAM H.

M A A à l'U.M.M.T.O

M<sup>lle</sup> MEDJBEUR D.

M A A à l'U.M.M.T.O

Promotion 2014 / 2015

## Remerciements

*En premier, nous remercions le bon dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et patience pour être ce que nous sommes aujourd'hui et pour mener à terme ce modeste travail ;*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice M<sup>lle</sup> ALI AHMED maitre assistante au département de biologie à l'UMMTO pour ses précieuses orientation, son aide et ses orientations, ses conseils et son souci de réaliser ce travail de recherche ;*

*Nous remercions aussi très sincèrement les membres de jury la présidente M<sup>me</sup> SADOUDI professeur à l'UMMTO et les examinatrices M<sup>me</sup> HEDJAM et M<sup>lle</sup> MESBAHI d'avoir bien voulu accepté d'évaluer notre travail ;*

*Nous voudrions aussi témoigner notre reconnaissance et exprimer toute notre gratitude à nos enseignants qui ont participé pour une grande part dans notre formation ;*

*Nous tenons à remercier nos amis pour nous donner le courage, le soutien moral pour mener ce modeste travail ;*

*Enfin, nous adressons un grand merci à nos familles et à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail et à tous ceux qui nous ont apporté leur aide.*

<b>Figure 1 :</b> Schéma global du devenir des HAP dans les sols d'après Alcaide et al. (2000).....	4
<b>Figure 2:</b> Schéma illustrant les mécanismes de phytoremédiation (DOYLE, 2008).....	7
<b>Figure 3:</b> Pois ( <i>Pisum sativum</i> ) (Anonyme, 2015).....	12
<b>Figure 4:</b> Luzerne ( <i>Medicago sativa</i> L.) (Anonyme, 2015).....	13
<b>Figure 5 :</b> Dispositif expérimental de l'essai au laboratoire.....	17
<b>Figure 6:</b> Taux de levée du pois et la luzerne sur le sol contaminé à des différentes concentrations par le pétrole brut.....	21
<b>Figure 7 :</b> Evolution de l'hauteur du pois et de la luzerne sur le sol contaminé aux différentes concentrations par le pétrole brut.....	23
<b>Figure 8:</b> Taux d'inhibition de nombre de feuilles du pois et la luzerne sur le sol contaminé à différentes concentrations par le pétrole brut.....	24
<b>Figure 9:</b> Taux d'inhibition de la biomasse aérienne du pois et la luzerne sur le sol contaminé à différentes concentrations.....	25
<b>Figure 10:</b> Taux d'inhibition de la biomasse racinaire du pois et la luzerne sur le sol contaminé aux différentes concentrations.....	26
<b>Figure 11:</b> Taux d'inhibition longueur racinaire du pois et la luzerne sur le sol contaminé à différentes concentrations.....	27
<b>Figure 12 :</b> Volume racinaire du pois et la luzerne sur le sol contaminé à différentes concentrations.....	29
<b>Figure 13 :</b> Taux d'inhibition de la germination du blé dur sur les sols contaminés cultivé par les deux espèces et sol contaminé non cultivé.....	30
<b>Figure 14:</b> longueur racinaire du pois et la luzerne sur le sol contaminé à différentes concentrations.....	31
<b>Figure 15 :</b> pH des sols contaminés aux différentes concentrations cultivés par le pois et la luzerne sur le sol contaminé non cultivé.....	32
<b>Figure16 :</b> Conductivité du pois et la luzerne sur le sol contaminé aux différentes concentrations.....	33
<b>Figure 17 :</b> spectre FTIR du sol contaminé à 5% non cultivée et cultivé par le pois.....	34

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau I</b> : Différent traitements de bioremédiation .	6
<b>Tableau II</b> : les principaux essais de phytoremédiation réalisés à l'UMMTO.	9
<b>Tableau III</b> : Caractéristiques chimiques de l'échantillon du sol de l'ITMA.	15
<b>Tableau IV</b> : Groupes homogènes de la levée des deux espèces pour le facteur concentration déterminés par le test Newman et Keul.	22
<b>Tableau V</b> : Groupes homogènes de la hauteur des deux espèces pour le facteur concentration déterminés par le test Newman et Keuls.	23
<b>Tableau VI</b> : Groupes homogènes de nombre de feuille des deux espèces pour le facteur espèce déterminés par le test Newman et Keuls.	25
<b>Tableau VII</b> : Groupes homogènes de la longueur de la racine pour le facteur concentration des deux espèces déterminée par le test Newman et Keuls.	28
<b>Tableau VIII</b> : Groupes homogènes de volume racinaire des deux espèces pour le facteur concentration des deux espèces déterminée par le test Newman et Keuls.	29
<b>Tableau IX</b> : Groupes homogènes de la biomasse aérienne des deux espèces pour le facteur concentration déterminée par le test Newman et Keuls.	26
<b>Tableau X</b> : Groupes homogènes de la biomasse racinaire des deux espèces pour le facteur concentration déterminée par le test Newman et Keuls.	26
<b>Tableau XI</b> : Groupes homogènes du pH de sol pour le facteur concentration des deux espèces déterminée par le test Newman et Keuls.	33

Introduction générale.....

## *Partie bibliographique*

Introduction.....	1
I. Généralité sur les Hydrocarbures.....	1
I.1. Classification des hydrocarbures .....	1
I.2. Propriétés des hydrocarbures .....	2
I.3. Sources d'hydrocarbures dans le sol.....	2
I.4. Devenir des hydrocarbures dans le sol.....	3
I.5. Effets écotoxicologiques des hydrocarbures.....	4
II. Moyens de décontamination .....	5
II.1. Les procédés thermiques .....	5
II.2. Les procédés physiques .....	6
II.3. Les procédés chimiques .....	6
II.4. Les procédés biologiques .....	6
II.4.1. La bioremédiation .....	6
III. La phytoremédiation.....	7
III. Mécanismes de la phytoremédiation.....	7
III.4.3. Caractéristiques des espèces végétales choisies en phytoremédiation.....	8
III.4.4. Les travaux effectués .....	8

## *Matériel et Méthodes*

I. Matériel.....	12
I.1. Matériel végétal.....	12
I.2. Le sol.....	15
I.3. L'hydrocarbure.....	16
I.4. Les pots .....	16
II. Méthodes.....	16

II.1. Dispositif expérimental.....	17
II.2. Effets des hydrocarbures sur les plantes.....	17
II.3. Effets des hydrocarbures sur les propriétés biologiques du sol .....	18
II.3. 1. Test de germination.....	18
II.3. 1. Longueur racinaire.....	19
II.4. Effets des hydrocarbures sur les propriétés chimiques du sol .....	19
II.4.1. Effet sur le pH.....	19
II.4.2. Effet Conductivité électrique (CE).....	19
II-5- Evaluation de la quantité des hydrocarbures dans le sol .....	19
Méthodes d'analyse statistique.....	19

## *Résultats et discussion*

1. Effets du pétrole sur la croissance du végétal.....	20
1.1. Taux de levée .....	20
1.2. Hauteur des plantes.....	21
1.3. Nombre de feuilles.....	23
1.4. Biomasse végétale .....	24
1.4.1. Biomasse aérienne.....	24
1.4.2. Biomasse racinaire.....	25
1.5. Longueur racinaire.....	26
1.6. Le volume racinaire.....	28
1.7. Bio-Essai .....	29
1.7.1. Taux de la germination .....	29
1.7.2. Longueur racinaire.....	30
2. Effet des hydrocarbures sur le pH du sol après culture.....	31
3. Effet des hydrocarbures sur CE du sol après culture.....	32
4. Analyse par la spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	33
Conclusion générale.....	35

# *Introduction générale*

L'exploitation des gisements de pétrole en Algérie n'a cessé d'augmenter ces dernières années, dans la quelle elle produit en moyenne 2.13millions de barils par jour (Mb/j) de pétrole liquide en 2009, contre 1,42 en 2001 (SONATRACH, 2010). En Algérie, l'exploitation des gisements de pétrole n'a cessé d'augmenter ces dernières années (SONATRACH, 2010).

Cette pollution cause une modification défavorable du milieu naturel qui apparait en totalité ou en partie comme sous produit de l'action humaine, au travers d'effets directs ou indirects altérant les critères de répartition des flux l'énergie, des niveaux de radiation de la constitution physico-chimique du milieu naturel et de l'abondance des espèces vivantes (Ramade 1992).

La décontamination et la réhabilitation des sols s'affirment comme un domaine d'activité émergeant et en plein évolution. Les procédés faisant appel à différents traitements (biotechnologies, thermiques, physico-chimiques) ont été largement pratiqués et s'avèrent très efficaces, cependant Les techniques physiques affectent très souvent l'activité biologique des sols et dégradent leur structure en laissant un résidu pour tout ou partie stérile. Les voies biologiques de décontamination des sols apparaissent alors comme des méthodes de substitution ou des méthodes complémentaires, moins coûteuses, plus extensives et plus respectueuses des caractéristiques des sols (Schwartz, 2009).

La phytoremédiation des contaminants présents dans les sols est une technologie émergente mettant en jeu les différentes interactions entre la matrice contaminée et l'organisme végétal. Pour les contaminants organiques tel que le pétrole brut, la phytodégradation semble être l'approche la plus prometteuse. Elle a l'avantage de ne pas affecter la qualité intrinsèque des sols (notamment la qualité agronomique) et son application représente un faible coût (Cardiere, 2006). La phytoremédiation est un moyen de décontamination des sites contaminés depuis 40 ans avec du pétrole.

Cette technique de décontamination est basée sur l'emploi de certaines plantes qui, généralement en association avec les micro-organismes de la rhizosphère, éliminent, dégradent ou fixent les contaminants du sol. La phytoremédiation est un processus indirect ; une interaction s'effectue entre les racines des plantes et les micro-organismes. En général, plus les racines sont abondantes, la partie racinaire des plantes étant beaucoup plus riche en micro-organismes que les sols, plus la bioremédiation est alors améliorée (CHAINEAU et al., 2000 ; LECOMTE, 1998).

L'objectif principal de cette étude est l'acquisition de connaissances et le développement de biotechnologies basées sur la phytoremédiation pour revégétaliser et réhabiliter un site contaminé par les hydrocarbures pétroliers.

Dans le but d'évaluer les effets des différentes concentrations du pétrole brut sur la croissance des deux espèces (luzerne, pois) et évaluer la résistance éventuelle de la luzerne et du pois à la pollution du sol par le pétrole brut en vue de son utilisation dans la phytoremédiation.

Le choix des espèces utilisées dans notre étude s'est basé principalement sur les observations des espèces spontanées qui avait poussé sur le site étudié et sur des travaux déjà entrepris dans le cas d'une contamination au pétrole.

Le présent mémoire se subdivise en trois chapitres. Le premier est une synthèse bibliographique où sont exposées les données relatives à la description des hydrocarbures pétroliers (sources, toxicité, leur solubilité...), suivies des différents procédés biotechnologiques de dépollution des sols.

Le second chapitre consiste en la présentation des matériels et méthodes utilisés pour l'essai de la phytoremédiation.

Le troisième chapitre est consacrée à la présentation et la discussion des résultats obtenus concernant :

- L'étude de quelques paramètres des espèces végétales à savoir le taux de levée, la hauteur des plantes, le nombre de feuilles, la longueur des racines, la biomasse végétale, et le volume racinaire en fonction de la concentration du pétrole brut.
- L'évaluation de l'efficacité de la phytoremédiation
- L'évaluation de la composition chimique du sol et du végétal par la spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).

La conclusion générale termine ce travail, synthétise l'ensemble des résultats obtenus dans notre étude et donne les principales perspectives de recherche.

# *Partie bibliographique*

Les hydrocarbures peuvent être libérés dans l'environnement par des phénomènes naturels tels que les éruptions volcaniques et les fuites des réservoirs naturels. Toutefois, on considère que les activités anthropiques comme l'exploitation des gisements et le raffinage sont une importante source de rejet d'hydrocarbures dans l'environnement. Ce phénomène est logiquement accentué aux endroits où l'industrialisation et l'urbanisation sont le plus développées (Colin, 2000).

## **I- Généralité sur les Hydrocarbures**

Les hydrocarbures sont des composés organiques, aux origines multiples qui ont un caractère ubiquiste dans l'environnement. Ces composés sont issus notamment des activités humaines et, en particulier, des processus industriels de pyrolyse et de combustion. Ils présentent une faible solubilité et, en conséquence, tendent à s'accumuler dans les sols. Ils interviennent dans 80% des cas de la pollution du sol (Denys et Rollin, 2005).

### **I.1. Classification**

Les hydrocarbures constituent la fraction la plus importante d'un brut pétrolier, ils représentent entre 65 et 95 % de la plupart des pétroles bruts (Neff, 1979). Ils sont regroupés en plusieurs classes parmi les quelles figurent les hydrocarbures aliphatiques, les hydrocarbures cycliques, et les hydrocarbures aromatiques (Fattal, 2008).

#### **I.1.1. Les hydrocarbures aliphatiques**

Ce sont des molécules linéaires ou ramifiées à longue chaîne, saturés (alcane) ou insaturés (alcènes ou alcynes) et substitués ou non (Arnaud, 2004). Ces produits flottent souvent sur les nappes souterraines et ils sont plus ou moins volatils et toxiques. Leur biodégradabilité est rapide lorsque les chaînes sont droites (Fattal, 2008).

#### **I.1.2. Les hydrocarbures cycliques**

Ce sont des hydrocarbures dont la chaîne carbonée est cyclique, ce sont les cycloalcanes (saturés), les cycloalcènes et les cycloalcynes (insaturés). Il existe une très grande diversité de structures cycliques (Arnaud, 2004). Peu toxiques, ces composés subsistent plus longtemps que les alcanes dans le milieu (Fattal, 2008).

#### **I.1.3. Les hydrocarbures aromatiques**

Les hydrocarbures aromatiques sont classés en deux catégories selon le nombre des cycles benzéniques associés. Ils sont très toxiques et persistants car ils sont insolubles dans l'eau (Fattal, 2008).

##### **➤ Les hydrocarbures aromatiques monocycliques (HAM)**

Ils sont composés uniquement de carbone et d'hydrogène et renferment un anneau de benzène (Gianina, 2010). Des quantités considérables d'hydrocarbures monoaromatiques sont d'origine pétrolière ou pétrochimique (Vandecasteele, 2005).

##### **➤ Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)**

Les HAP résultent de la combustion incomplète de la matière organique. Ils sont peu solubles dans l'eau et s'adsorbent fortement sur les particules organiques du sol, ce qui diminue considérablement leur biodisponibilité (Coste et Druelle, 1999).

#### **I.1.4. Les hydrocarbures dans le pétrole**

Le pétrole brut est composé presque totalement d'hydrocarbures de trois principaux types: les paraffiniques, les naphthéniques (ou les cycloalcanes) et les aromatiques auxquels

viennent s'adjoindre du soufre, des traces de composés oxygénés et azotés et quelques métaux. La composition du pétrole brut est variable selon son origine (Collin, 2000).

## I.2. Propriétés des hydrocarbures

### I.2.1. Solubilité

Elle détermine l'existence, l'extension, et la composition des panaches de contamination dissoute (Colin, 2000).

### I.2.2. Densité

La densité des hydrocarbures varie avec la longueur des chaînes carbonées. La plupart des hydrocarbures ( $C_5$  et  $C_{26}$ ), s'accumuleront sélectivement en surface de la nappe (densité inférieure à 1) et les hydrocarbures les plus lourds (fuels) s'accumuleront au plancher de celle-ci (densité supérieure à 1) (Lemiere et *al.*, 2001).

### I.2.3. Viscosité

Elle influe directement sur la perméabilité de matériau poreux au produit pur et régit donc son écoulement en phase à travers les zones non- saturée et saturée (Colin, 2000).

### I.2.4. Point d'éclair

C'est la plus basse température à laquelle les fractions d'hydrocarbures s'enflamment lorsqu'elles sont soumises à une étincelle. Certaines essences ont des points d'éclair à  $-4^{\circ}C$  alors que le mazout, que l'on trouve comme élément dans une chaudière à un point d'éclair aux alentours de  $55^{\circ}C$  (Fattal, 2008).

## I.3. Sources d'hydrocarbures dans le sol

### I.3.1. Sources naturelles

Les feux de forêts et de prairies sont considérés les plus importants processus naturels qui génèrent les hydrocarbures. D'autres sources naturelles existent telle que : les éruptions volcaniques, l'érosion des roches, les fuites de réservoirs naturels, ainsi que la production d'hydrocarbures par les végétaux supérieures (cires) ou par les algues (Rocher et Moilleron, 2000).

### I.3.2. Sources anthropiques

Les activités anthropiques telles que l'industrie, l'utilisation du pétrole et de ses dérivés (gasoil, diesel, et kérosène) ainsi que la combustion incomplètes des combustibles fossiles sont à l'origine de l'accumulation des hydrocarbures dans l'environnement (Peixoto et *al.*, 2011).

## I.4. Devenir des hydrocarbures dans le sol

C'est par des processus physiques, chimiques et biologiques qu'un hydrocarbure va pouvoir être déplacé, transformé ou éliminé, après avoir été répondu dans l'environnement. Parmi eux, l'adsorption, la volatilisation, la dégradation abiotique (chimique ou photochimique) ainsi que la biodégradation biotique (Fattal, 2008).

## **I.4.1. Volatilisation**

Les composés légers se volatilisent et deviennent très mobiles. Les hydrocarbures les plus légers sont éliminés rapidement dès les premiers jours, pouvant conduire à une pollution de l'atmosphère (Soltani, 2004).

## **I.4.2. 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).

Il est important de noter que ces hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement, ils sont difficiles à éliminer et sont absorbés par la faune et la flore (Chocat, 2004).

## **I.4.3. Adsorption**

C'est un processus dynamique au cours duquel les molécules sont continuellement en équilibre entre la phase solide et la phase liquide (particule du sol).c'est un facteur important qui détermine le sort de nombreuses molécules organiques influencées par la matière organique et les minéraux contenus dans le sol (INERIS, 2004).

## **I.4.4. Dégradation**

La dégradation est un processus essentiel dans la dissipation d'un produit par sa transformation. Elle influe sur la persistance et les possibilités de contamination. Ce processus peut entraîner une dégradation totale du produit ou simplement former des produits intermédiaires de dégradation (Gendrault, 2004).

### **I.4.4.1. Dégradation abiotique**

#### **➤ Hydrolyse**

L'hydrolyse d'un composé organique est un processus de transformation dans lequel une molécule d'eau ou un ion hydroxyle réagit pour former une nouvelle liaison carbone-oxygène (IUCLID, 2002).

#### **• Les réactions de réduction et d'oxydation**

Elles sont le plus souvent catalysées par des constituants inorganiques divers, tels que: un sol argileux, les semi-conducteurs ou les cations (Djebbar, 2002).

#### **• Les réactions de dégradation photochimique**

La photolyse ou photodégradation est basée sur la dégradation de molécules organiques par une radiation lumineuse qui peut être un rayonnement solaire et/ou ultraviolet (UV). Pour les polluants organiques, la destruction reste fonction de la molécule, de la radiation et de la durée d'exposition (Ould Sid Ahmed, 2004).

## **I.4. 2. Dégradation biotique**

La biodégradation est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement (Soltani, 2004), les microorganismes sont responsables en particulier les bactéries.

L'importance de la biodégradation dans l'élimination du pétrole ; les voies métaboliques d'oxydation des hydrocarbures par les bactéries et les paramètres qui peuvent influencer la biodégradation (Soltani , 2004).

La toxicité des HAP est plus importante que d'autres hydrocarbures qui, une fois émis dans l'environnement, ils sont plus sensibles aux phénomènes d'altération et persistent donc moins dans le milieu, le devenir des HAP dans le sol est illustrés dans (Fig1).

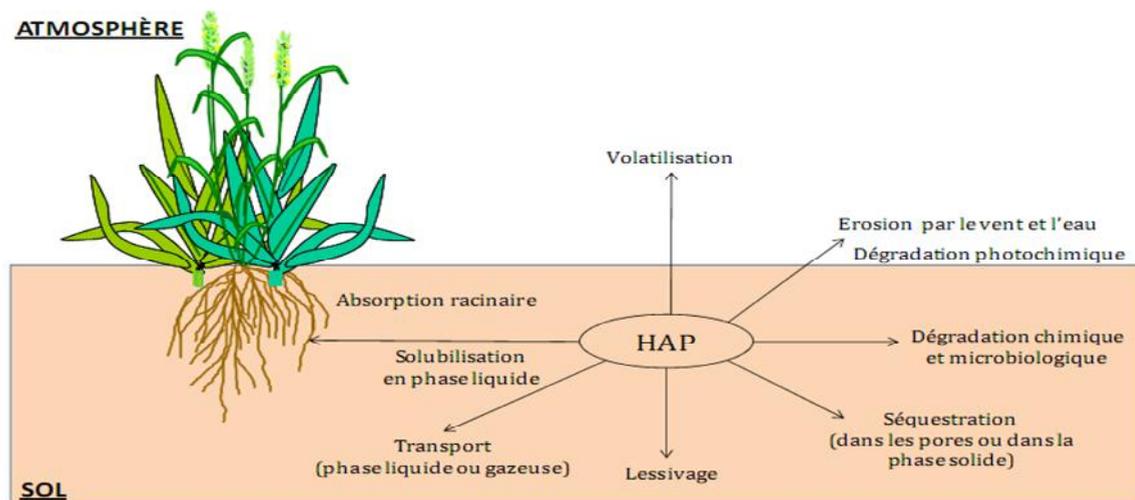


Fig 1 : Devenir des HAP dans les sols (Alcayde et *al.* , 2000)

## I.5. Effets écotoxicologiques des hydrocarbures

L'exploitation des hydrocarbures nécessite et engendre des opérations et activités importantes qui perturbent notre environnement (Alvarez, 2011).

### I.5.1. Effets sur le sol

La présence des hydrocarbures au niveau d'un sol avec des concentrations plus ou moins élevées peut affecter ses propriétés physiques, chimiques et biologiques.

#### I.5.1.1. Effets sur les propriétés physiques

Les études élaborées pour déceler l'impact des hydrocarbures sur les propriétés physiques du sol ne sont pas nombreuses. La présence des hydrocarbures sur le sol modifie légèrement sa structure (Diagne et Talhi, 1999). Les hydrocarbures enrobent les particules minérales ce qui favorise leur dispersion (Rouquerol *et al.*, 1987).

#### I.5.1.2. Effets sur les propriétés chimiques

Selon Chaineau et ses collaborateurs (1996), les effets des hydrocarbures sur les propriétés chimiques du sol consistent généralement en :

- Une augmentation de la concentration en éléments traces tels que Mn, Zn, Fe, Pb ;
- Une élévation du pH du sol et de la teneur en potassium (K) et en calcium (Ca) ;
- Une diminution de la teneur du sol en phosphore (P) et une augmentation en carbone organique total.
- Une augmentation de la conductivité électrique (CE) entraînant l'inhibition de certaines plantes très sensibles à la présence des sels.

### **I.5.1.3. Effets sur les propriétés biologiques**

Dommergues et Mangenot (1970), ont affirmé qu'un sol imprégné par les hydrocarbures présente un très grand nombre de germes (bactéries, actinomycètes, champignons) revivifiables.

Rouquerol et ses collaborateurs (1987), ont également avancé que l'imprégnation des sols en hydrocarbures a pour effet global une multiplication intense de la microflore en particulier des champignons, des bactéries et des levures.

Les effets des hydrocarbures sur l'activité biologique du sol dépendent de leur nature, de leur concentration dans le sol et d'autres facteurs liés au milieu (Duchaufour, 2001).

### **I.5.2. Effets sur le végétal**

Le sol est à la fois le support et le réservoir nutritif du végétal. L'effet phytotoxique des hydrocarbures a été observé à travers la diminution du taux de germination, les retards de la croissance et le rendement (Chaineau et *al.*, 1996), L'apparition des chloroses, des diminutions de l'activité photosynthétique et des stress hydriques ont été signalés par Reilly et *al.*, (1996) in Norini, (2007).

### **I.5.3. Effets sur la santé humaine**

Les hydrocarbures sont susceptibles d'induire l'apparition de cancers chez les organismes qui leur sont exposés par inhalation, par ingestion ou par contact. Les principaux hydrocarbures carcinogènes sont représentés par les HAP dont les plus communs sont le benzanthracène, les benzopyrènes et les fluoranthènes. Bien qu'ils ne soient pas de haute toxicité, ils présentent souvent une forte, voir une très forte, cancérogénicité. La présence de substituants alkylés sur leurs molécules accroît leur pouvoir cancérogène tandis que leur halogénéation augmente leur toxicité pour les espèces animales (Ramade, 1992).

### **I.5.4. Effets sur l'environnement**

A travers l'étude de l'évolution des hydrocarbures dans les phases liquide et gazeuse du sol, on peut dire que les terrains contaminés entraînent une extension de la contamination, que ce soit par voie aérienne (entraînement des poussières contaminées et migration des vapeurs) ou souterraine (migration d'eaux contaminées), aux environs immédiats du site, où peuvent habiter des populations humaines (Fattal, 2008).

## **II. Moyens de décontamination**

La décontamination est un ensemble de procédés consistant à épurer ou tout au moins à isoler un milieu ayant été exposé à une pollution chronique ou récurrente qui l'a rendu inutilisable pour des activités domestiques, agricoles ou industrielles. Le traitement concerne des terres excavées ou des sols et nappes phréatiques encore en place (Koller, 2004).

### **II.1. Les procédés thermiques**

Le traitement thermique est essentiellement employé *ex situ* pour la décontamination des sols pollués par des matières organiques facilement oxydables et largement convertible en CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O. En général la technique du désorbiteur rotatif est la plus utilisée (Colin, 2000).

Cependant, il existe quelque inconvénient à cette méthode, comme la position des électrodes qui limite la profondeur et la surface à traiter. De plus, il peut se produire un dégagement de gaz toxiques, devant alors être traités (Colin, 2000).

## II.2. Les procédés physiques

Ce sont les méthodes les plus largement utilisées. Le principe consiste à utiliser des fluides, présents dans le sol ou injectés comme vecteur pour transporter la pollution vers des points de concentration et d'extraction. Les procédés de lavage, pompage-écrémage et le confinement sont les plus utilisés (Colin, 2000).

## II.3. Les procédés chimiques

Les techniques chimiques ont pour but de détruire les polluants ou les transformer sous une forme moins nocive pour l'environnement, en provoquant des réactions chimiques entre les polluants contenus dans le sol et un réactif ajouté. Elles peuvent aussi concentrer les polluants de façon similaire aux procédés physiques de nettoyage des sols (Colin, 2000). La majorité des procédés exigent que les sols soient forme de boues ou que les contaminants soient mobilisés dans le milieu.

## II.4. Les procédés biologiques

Les techniques physiques affectent très souvent l'activité biologique des sols et dégradent leur structure en laissant un résidu pour tout ou partie stérile. Les voies biologiques de décontamination des sols apparaissent alors comme des méthodes de substitution ou des méthodes complémentaires, moins coûteuses, plus extensives et plus respectueuses des caractéristiques des sols (Schwartz, 2009).

Il existe deux catégories principales : les techniques de bioremédiation qui utilisent essentiellement des bactéries et les techniques de phytoremédiation qui exploitent les propriétés des végétaux (Cadiere, 2006).

### II.4.1. La bioremédiation

La bioremédiation est basée sur l'utilisation de souches microbiennes (bactéries et /ou champignons). Elle consiste à utiliser ces organismes pour transformer des substances chimiques toxiques en substances non toxiques (Abdely, 2006), dont les techniques sont présentées dans le tableau I.

**Tableau I :** Différentes techniques de bioremédiation (VIDALI, 2001).

Techniques	Principe
Bioaugmentation	Addition d'une culture des bactéries dans le milieu contaminé. Utilisée couramment dans les bioréacteurs et le système ex-situ.
Biofiltration	Utilisation d'un biofiltre pour traiter les émissions gazeuse.
Biostimulation	Stimulation des populations de microorganisme indigènes, présente dans le sol ou les eaux souterraines. Elle peut être utilisée in-situ ou ex-situ.
Bioréacteur	Déroulement de la biodégradation dans des réacteurs ou bassins
Compostage	La présence des matières organique non toxiques (déchets ménagers au agricoles permet le développement des microorganismes et élévation de la température.
Biolixiviation	Excavation de la couche à dépolluer, son emballage dans une membrane étanche, l'apport des nutriments indispensables aux microorganismes et la remise en place du sol ainsi traité. Utilisée pour la dépollution des métaux non dégradables.

## III.4 .2. La phytoremédiation

La phytoremédiation repose essentiellement sur les interactions entre les plantes, le sol et les micro-organismes du sol. Les plantes vont soit absorber le contaminant pour le métaboliser ou le stocker, soit réduire voire empêcher la libération du contaminant dans d'autres compartiments de l'environnement. Ces techniques ont été développées à base de plantes qui sont poussées naturellement sur des sites pollués.

Certaines plantes ont la capacité d'extraire des polluants du sol par les racines et les transférer et les concentrer dans d'autres endroits de la plante, par exemple le tronc, les tiges, les branches ou les feuilles (Rudolph, 2010).

### III.4.2.1. Les avantages de la phytoremédiation

La phytoremédiation offre plusieurs avantages qui font d'ailleurs son succès. C'est une technique peu coûteuse (10 à 100 fois moins que d'autres procédés de dépollution) ; (Illovcic et *al.*, 2012).

Selon Lecomte (1998), la phytoremédiation est la méthode la moins destructrice car elle utilise des organismes naturels et préserve l'état naturel de l'environnement contrairement à l'emploi de procédés chimiques, il n'y a donc pas d'impacts négatifs sur la fertilité des sols et les végétaux produits peuvent être exploités.

### III. 4.2.2. Mécanisme de la phytoremédiation

Plusieurs mécanismes permettent aux plantes l'élimination des polluants par phytoremédiation (fig 2) .



Fig 2: Schéma illustrant les mécanismes de phytoremédiation (DOYLE, 2008)

#### III.4.2.2.1. Phytoextraction

Elle consiste à utiliser, sur les sols contaminés, des plantes accumulatrices pour extraire, transporter et concentrer les polluants dans les parties récoltables de la plante. Pour que cette technique soit efficace, il faut que le polluant soit disponible pour les racines et que celles-ci puissent le tolérer et l'absorber (Koller, 2004).

#### III.4.2.2.2. Rhizofiltration

C'est l'utilisation des racines des plantes pour absorber, concentrer ou précipiter les polluants d'un effluent liquide (Koller, 2004).

### III.4.2.2.3. Phytostabilisation

Il s'agit de l'utilisation des plantes pour réduire la biodisponibilité, la mobilisation ou le lessivage des polluants, par conséquent, leur entrée dans la chaîne alimentaire ou les nappes phréatiques (Koller, 2004).

### III.4.2.2.4. Phytovolatilisation

Elle consiste en la stimulation de la volatilisation ou moyen de plantes qui absorbent les polluants puis les éliminent par transpiration (Delage et Schrefler, 2005).

### III.4.2.2.5. Phytotransformation

C'est la transformation des composés organiques du polluant au moyen de réactions biochimiques engendrées par les nombreuses enzymes contenues dans les plantes. Elle favorise la dégradation des molécules organiques complexes en composés plus simples qui seront intégrés dans les tissus végétaux. Généralement, elle concerne les polluants facilement biodégradables (Lecomte, 1998).

### III.4.2.2.6. Phytostimulation

Elle consiste à utiliser des plantes pour stimulation des micro-organismes présents dans la rhizosphère, engendrant ainsi une activité biodégradatrice plus élevée (Delage et Schrefler, 2005). Elle ne met pas vraiment en contact les polluants et les végétaux. Il s'agit en fait d'une stimulation de la dégradation microbienne et fongique par les enzymes libérés dans la rhizosphère racinaire, ce qui entraîne la destruction des polluants organiques présents (Lecomte, 1998).

## III.4.3. Caractéristiques des espèces végétales choisies en phytoremédiation

L'utilisation d'une ou plusieurs espèces végétales est nécessaire, et leur choix doit être judicieux. Il faudra privilégier des espèces indigènes du site à remédier plutôt que des plantes hors de leur aire d'origine qui pourraient devenir des espèces invasives (Gonzalez et Gonzalez-Chavez, 2005).

Les espèces choisies devraient être capables de supporter la contamination mais aussi les autres stress souvent présents comme la sécheresse ou le manque de nutriments. Elles doivent aussi avoir une croissance rapide.

Par exemple pour la phytoextraction, les plantes doivent avoir un fort taux de translocation vers les parties aériennes et une forte accumulation du contaminant dans celles-ci. On les appelle des accumulatrices.

## III.4.4. Les travaux effectués dans le monde

Vers une recherche permanente de connaissances sur le pouvoir des plantes, selon Illovcic et al (2012), en France et en Europe, la phytoremédiation se situe à un stade expérimental avancé : sites pilotes, serres, etc.

Les chercheurs tentent d'améliorer les capacités accumulatrices des plantes, en les modifiant génétiquement. Différents centres de recherche dans le monde notamment aux Etats-Unis et au Canada, mais également en Europe comme en France, travaillent sur la modification et la recherche de plantes capables d'accumuler suffisamment de polluants pour dépolluer un site contaminé. De nombreux projets s'effectuent dans le monde et en France dans des laboratoires ou en grandeur nature dans des champs réalisés par des centres de recherches et des universités. Des recherches en biotechnologie sont également effectuées en

laboratoire pour améliorer la capacité d'absorption en modifiant les racines. D'autres réflexions et expérimentation sont en cours et l'évolution dans le domaine permettra de compléter les utilisations rationnelles d'une plante vers une problématique identifiée. (Illovic et al., 2012).

### III.4.5. Les travaux de la recherche sur la phytoremédiation en Algérie

Les travaux de recherche en Algérie sont encore au stade expérimental. Au niveau de la faculté quelques travaux ont été réalisés ces dernières années sur des sols contaminés par les hydrocarbures dont la synthèse est présentée dans le tableau II :

**Tableau II** : les principaux essais de phytoremédiation réalisés à l'UMMTO.

Les espèces utilisées	Le sol pollué	Résultats	Auteur et année
-Orge ( <i>Hordium vulgare</i> .L) -Luzerne ( <i>Medicago Sativa</i> . L)	- Sol contaminé par le pétrole à 2% et 5% provient de l'INA -Pétrole brut de Hassi-Messouad	-Effet des hydrocarbures sur le sol et les deux espèces -Plus la concentration des hydrocarbures augmente plus leur effet est important -Effet positif de la Luzerne sur l'activité biologique du sol.	<b>ALI AHMED S et BELKAID, (2006)</b>
-Orge ( <i>Hordium vulgare</i> . L) -Haricot ( <i>Phaseolus vulgaris</i> .L)	-sol contaminé par le pétrole à 5% provient de l'ITMA -pétrole brut de Hassi-Massouad -l'essence provient d'une unité de NAFTAL.	-L'essence plus biodégradable que le pétrole -L'essence est moins toxique que le pétrole brut. -Diminution du rendement végétal -Modification de la microflore bactérienne. -Les légumineuses sont plus efficaces dans la biodégradation des hydrocarbures	<b>FEZANI et KHIDER (2007).</b>
-Blé dur ( <i>Triticum durum</i> . L) -Pois vivace ( <i>Lathyrus latifolius</i> . L)	-Le sol provient de l'ETMA (Boukhalfa) - le pétrole brut et l'essence de l'unité NAFTAL.	-L'essence est moins toxique que le pétrole. -Le pois vivaces plus résistant aux hydrocarbures que le blé dur. -La capacité des légumineuses à réhabiliter des sites contaminés.	<b>KELLAS, (2008)</b>
-Le Pois, ( <i>Pisum sativum</i> . L) -Le Pois chiche, ( <i>Cicer arietinum</i> . L)	-sol provient de l'ITMA -pétrole brut prévenu de Hassi-Massouad	-Effet toxique des hydrocarbures sur les deux espèces et sur le sol. -Le pois est plus efficace dans la biodégradation des hydrocarbures que le pois chiche.	<b>BENAMARA et MOHAMMADI (2010).</b>
-Maïs ( <i>Zea mays</i> L) -Sorgho, ( <i>Sorghum bicolor</i> . L)	-Sol provient de l'ITMA (Boukhalfa) -Pétrole brut de Hassi-Massouad	-Augmentation de l'humidité et la mouillabilité du sol. -Diminution du rendement en matière sèche de deux espèces. -La dégradation des hydrocarbures dans le sol	<b>MAHA et MOULA, (2011)</b>
-Haricot, ( <i>Phaseolus Vulgaris</i> L.) -Pois chiche, ( <i>Cicer Arietinum</i> L.)	-Sol provient de l'ITMA (Boukhalfa) -Le pétrole. -L'essence	-La quantité d'essence dégradée est plus élevée que celle du pétrole brut. -Grande toxicité pour les deux espèces. -Effet sur les propriétés du sol. -La capacité des légumineuses à améliorer la qualité des sols pollués.	<b>AIT TAYEB et TITOUCHE (2011)</b>
-Fève ( <i>Vicia faba</i> . L) -Trèfle ( <i>Trifolium alexandrinum</i> . L)	-Sol provient de l'ITMA, contaminé par le pétrole à 5%.	-la fève est plus résistant que le trèfle en vers le pétrole. -la présence des nodules dans la fève favorise la décontamination des sols	<b>BELKACEM et ROUAS ( 2012)</b>

## *Partie Bibliographique*

---

La plupart des travaux de recherche sur la phytoremédiation cités ci-dessus avaient pour objets de tester l'effet d'une concentration des hydrocarbures. Mais il paraît intéressant d'évaluer les effets des hydrocarbures sur la croissance des plantes à différentes concentrations.

# *Matériel et méthodes*

## Introduction

Notre travail a été réalisé au laboratoire de pathologie des écosystèmes de la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Dans le but de la mise en œuvre de dispositif expérimentale et des techniques d'évaluation de la quantité des hydrocarbures dans le sol et dans les plantes, et l'efficacité des légumineuses (la luzerne et le pois ) à remédié un sol contaminé par le pétrole brut, un matériel a été réuni et un ensemble de méthodes a été adopté.

## I. Matériel

### I.1. Matériel végétal

Deux espèces végétales différentes ont été utilisées à savoir le pois et la luzerne qui appartient a la famille des Légumineuses.

#### I.1.1. Pois

Le pois (*Pisum sativum* L), est une espèce de plante annuelle de la famille des Fabacées. Le terme désigne aussi la graine elle-même, riche en énergie (amidon) et enprotéine (Clement, 1994).



Figure 1 : le pois (*Pisum sativum*) (Anonyme, 2015)

#### I.1.2.1. Classification botanique

D'après Cronquist (1981), la classification botanique du pois est comme suit

Règne .....	Plantae
Sous règne.....	Tracheobiotba
Division .....	Magnoliophyta
Classe .....	Magnoliopsida
Sous-classe .....	Rosidae
Ordre .....	Fabales
Famille .....	Fabaceae
Sous-famille.....	Faboideae
Tribu.....	Fabeae
Genre.....	<i>Pisum</i>
Espèce.....	<i>Pisum sativum</i>

### I.1.2.1. Caractéristiques morphologiques

D'après Clement (1994), le pois forme une tige herbacée angulaire ou cylindrique avec peu ou pas de ramifications. Le plant est plus ou moins grimpant et s'accroche aux supports avec les vrilles des feuilles. Il forme des feuilles alternes avec là 3 paires de folioles et un long pétiole creux.

Le pois forme une racine principale pivotante développée et des racines secondaires latérales. Des nodules globulaires peuvent se développer sur la racine principale des jeunes plants.

### I.1.2.2. Exigences climatiques et édaphiques

Le pois exige un climat tempéré humide et les diverses variétés résistent au grand froid de -1 à 2°C. Les températures élevées accélèrent la maturation des pois et entraînent leur durcissement. En périodes sèches, il est nécessaire de prévoir des irrigations, mais les pois craignent les excès d'humidité (Clement, 1994).

Le pois peut être cultivé dans les sols les plus variés. Toutefois, les meilleurs résultats sont obtenus dans les sols argileux, limono-sableux ou sableux, peu acides, pas trop compacts ni trop tourbeux, bien drainés et irrigables (Anonyme 1985).

### I.1.2. La luzerne

La luzerne (*Medicago sativa* L.), est une légumineuse fourragère.



Figure 3 : La luzerne (*Medicago sativa* L.) (Anonyme, 2015).

### I.1.3.1. Classification botanique

D'après Cronquist (1981), la classification botanique de la luzerne est comme suit :

Règne.....	Plantae
Sous-règne.....	Tracheobionta
Division.....	Magnoliophyta
Classe.....	Magnoliopsida
Sous-classe.....	Rosidae
Ordre.....	Fabales
Famille.....	Fabaceae
Sous-famille.....	Faboideae
Tribu.....	Trifolieae
Genre.....	<i>Medicago</i>
Espèce.....	<i>Medicago sativa</i> L.

### I.1.3.2. Caractéristiques morphologiques

C'est une plante vivace de 50 à 80 cm de haut et à tiges dressées et ascendantes très ramifiées. Les feuilles sont trifoliées pétiolées et dentées. (Chaabna, 2001 in Berrama, 2004).

La racine pivotante, en sol profond et bien drainé, descend habituellement à plus de 5 m de profondeur. La partie supérieure de la racine de la luzerne a un fort pivot grâce aux grosses racines secondaires qui se marquent à la surface. Ces racines portent de petites excroissances isolées ou en grappes; ce sont des nodosités ovoïdes ou d'aspect globuleux, dont la taille ne dépasse pas 2 à 3 mm (Berrama, 2004).

### I.1.3.3. Exigences climatiques et édaphiques

La germination se produit à un optimum situé entre 19 et 25°C, La croissance des jeunes semis est rapide entre 20 et 30°C. En dessous de 10°C et au-delà de 37°C, la croissance est fortement réduite (Berrama, 2004).

Les besoins de la luzerne en eau varient entre 800 et 1600 m<sup>3</sup>/ha (Doornbos, 1987 in Slimane, 1992). La luzerne préfère un sol argileux ou limoneux (Berrama, 2004).

### I.1.3.4. Rôle écologique

D'après Duchauffour (2001) la luzerne est une plante qui résiste à la pollution par les hydrocarbures. A cet effet, a préconisé l'utilisation des légumineuses fourragères pour réduire la pollution du sol par les hydrocarbures. Elle joue un rôle primordial dans la dépollution grâce à son puissant système racinaire qui procure au sol une bonne aération et stimule l'activité microbienne, accélérant par conséquent, les phénomènes de dégradation naturelle.

### I.1.3. Blé dur

Nous avons utilisé cette espèce dans le bio-essais, et le chois se fait par leur sensibilité aux hydrocarbures.

D'après Cronquist (1981), le blé occupe la position suivante :

Règne .....	Plantae
Sous-règne.....	Trachéobionta
Division .....	Magnoliophyta
Classe.....	Liliopsida
Sous-classe .....	Commelimidae
Ordre .....	Cyperales
Famille .....	Poaceae
Sous-famille.....	Pooideae
Tribu.....	Triticeae
Genre.....	<i>Triticum</i>
Espèce .....	<i>Triticum durum</i> L.

Le blé dur est une espèce autogame appartenant à la famille des Poacées. L'embryon se développe lorsque les conditions d'humidité et de température sont réunies. Durant cette période de germination les racines séminales se développent et les premières feuilles appariassent (Abib et Ali Ahmed, 1998).

Le système racinaire du blé dur est assez développé et de type fasciculé. Le système aérien est formé d'un certain nombre de ramification ou talles et chaque talle est constituée d'un chaume.

La température conditionne à tout moment la physiologie du blé dur, une température supérieure à 0°C est exigée pour la germination des céréales (Soltner, 1990).

## I.2. Sol

L'étude expérimentale à été réalisée sur un échantillon de sol qui provient d'une parcelle de l'institut technologique moyen d'agriculture (ITMAS) de Boukhalfa. Le prélèvement correspond à une couche superficielle du sol de 0-25 cm

Les résultats de l'étude du sol de l'ITMAS réalisée dans le laboratoire de pédologie de l'institut National de Recherche Forestière (INRF) montrent qu'il s'agit d'un sol à texture argilo-limoneuse et ses caractères chimique sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau III:** Caractéristiques chimiques de l'échantillon du sol de l'ITMAS

Caractéristiques chimiques	Résultats
<b>pH</b>	8,55
<b>Calcaire total</b>	2,1 %
<b>Matière organique</b>	3 %
<b>Azote total</b>	N % =0,02%
<b>Carbone organique</b>	1,74 %
<b>Rapport C/N</b>	8,7
<b>Conductivité électrique</b>	0,1 mmhos/cm

D'après BAIZE (2000), en sol agricole, les rapports C/N des horizons de surface labourés (horizon) sont dans l'ordre de 9 quand l'humification est bonne. Cela correspond à la présence des matières organique.

Après l'étude de notre échantillon de sol, nous pouvons dire qu'il s'agit d'un sol à pH alcalin, peu calcaire, riche en matière organique et qui présente une bonne activité biologique.

Le sol choisi est propice à la culture du pois. En effet, les sols de texture légère à moyenne, sont favorables à une installation profonde du système racinaire de notre plante. Les sols les plus favorables sont sablo-limoneux et argilo-limoneux (PERON, 2004)

### **I.3. Le pétrole**

Le pétrole utilisé pour la contamination du sol, est brut et provient d'une unité d'exploitation de HASSI MESSAOUD. C'est un substrat qui consiste en un mélange de composés aliphatiques et aromatiques dans des proportions respectives de 45% et 32 à 35%.

### **I.4. Les pots**

Les pots utilisés pour la culture des deux espèces ont un diamètre de 7cm et une longueur de 8 cm, en polyéthylène.

## **II. Méthodes**

Notre étude consiste en une évaluation d'essai du pétrole brut sur les deux espèces (luzerne, pois) et sur le sol.

Cette étude nous permet de voir la différence entre les deux espèces considérées en termes de résistance à la pollution par les différentes concentrations du pétrole brut et d'évaluer la capacité de ces espèces à améliorer les caractéristiques physico-chimiques du sol dans un essai de phytoremediation mené au laboratoire.

### **II.1. Mise en place des cultures**

#### **II.1.1. La préparation du sol**

Après échantillonnage sur le terrain, le sol a été séché à l'air libre puis tamisé à 4mm et homogénéisé ensuite contaminé par le pétrole brut puis réparti sur 54 pots , dont 36 ont été cultivés, et 18 non cultivés .

#### **II.1.2. La contamination du sol par le pétrole brut**

Les 54 échantillons du sol, sont différemment contaminés par le pétrole brut aux concentrations de 0%, 1%, 3%, 5%, 7%, 9% avec agitation manuelle.

#### **II.1.3. Le semis**

6 lots sont donc obtenus pour chaque espèce ; et pour sol non cultivé.

**Lot 1 :** Constitué de 3 pots numérotés de 1 à 3, contenant un sol contaminé à 0% par le pétrole brut.

**Lot 2 :** Constitué de 3 pots numérotés de 1 à 3, contenant un sol contaminé à 1% par le pétrole brut.

**Lot 3 :** Constitué de 3 pots numérotés de 1 à 3, contenant un sol contaminé à 3% par le pétrole brut.

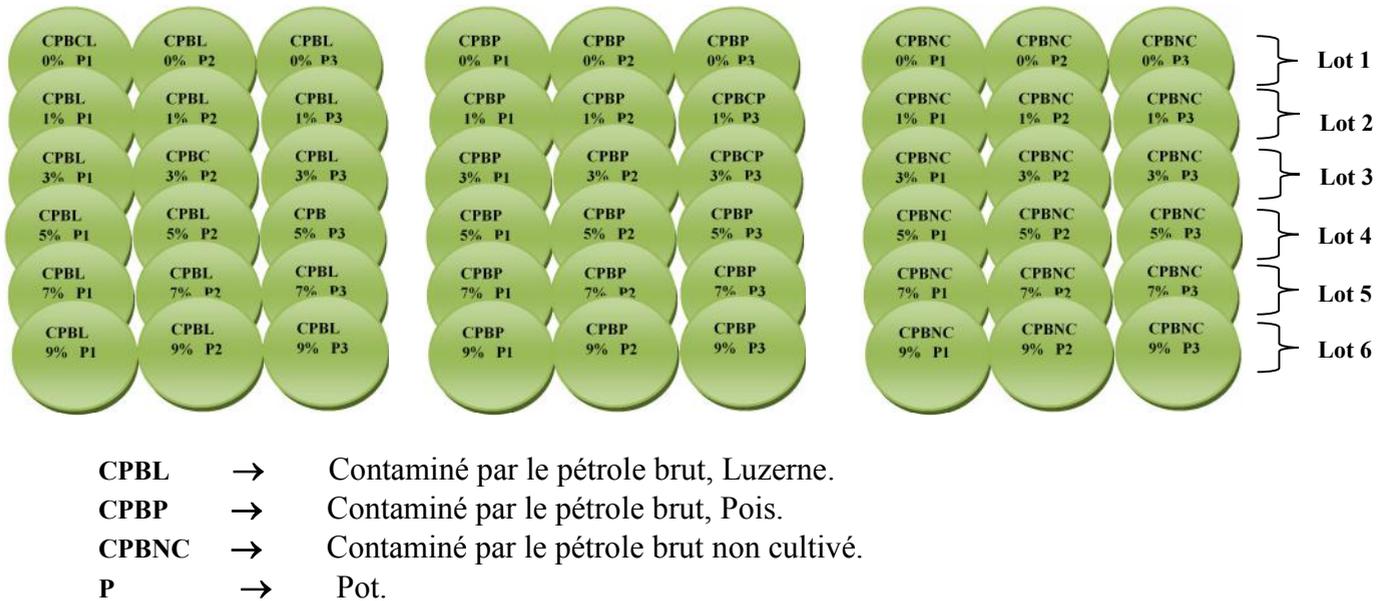
**Lot 4 :** Constitué de 3 pots numérotés de 1 à 3, contenant un sol contaminé à 5% par le pétrole brut.

**Lot 5 :** Constitué de 3 pots numérotés de 1 à 3, contenant un sol contaminé à 7% par le pétrole brut.

**Lot 6 :** Constitué de 3 pots numérotés de 1 à 3, contenant un sol contaminé à 9% par le pétrole brut.

Le semis a été réalisé le 19/11/2012 pour les deux espèces le pois, et la luzerne, 3 graines ont été semées dans chaque pot à une profondeur de 3 cm pour le pois et 10 graines par pots à une profondeur de 1 cm réparties pour la luzerne.

Notre dispositif expérimental est un dispositif complètement aléatoire, la figure montre la répartition les deux espèces dans les pots.



**Fig II** : Dispositif expérimental de l'essai au laboratoire

## II.1.4. Le suivi des cultures

Le suivi des cultures en place a été conçu par :

Un arrosage régulier à l'eau de robinet durant toute l'expérimentation, et l'eau infiltrée dans les assiettes est réutilisée pour l'arrosage pour maintenir la concentration des hydrocarbures dans le sol.

## II.1.5. La récolte

La récolte a eu lieu 28/01/2015, elle a été réalisée au début de floraison du pois.

## II.2. Effets des hydrocarbures sur les plantes

Les effets des hydrocarbures sur les plantes sont mis en évidence par l'évaluation des paramètres suivant :

### II.2.1. Le taux de levée

Il consiste à établir un pourcentage de levée dans chaque pot de la troisième semaine, en dénombrant les plantes levées. Il est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de levée \%} = (\text{nombre de plantes levées} / \text{nombre totale de graines semées}) \times 100$$

## II.2.2. La hauteur des plants

Il consiste à mesurer des plantes hebdomadairement à l'aide d'une règle graduée en centimètre (Cm).

## II.2.3. Le nombre de feuilles

Il consiste à dénombrer le nombre de feuilles dans chaque plant à la fin de la culture.

## II.2.4. Biomasse aérienne

Il s'agit de peser la partie aérienne des plants, de chaque sol, à l'état sec. La partie aérienne étant séparée de la partie racinaire et séchée à l'étuve à 40°C pendant 24 heures.

## II.2.5. Biomasse racinaire

Elle consiste à mesurer le poids des racines en suivant les mêmes étapes que pour la biomasse aérienne.

## II.2.6. Volume racinaire

Après séparation des deux parties aérienne et racinaire, la partie racinaire de chaque plante est mise dans un tube gradué contenant de l'eau à un volume précis  $V_0$ , le niveau d'eau augmente dans le tube jusqu'à un volume  $V_1$ . Le volume  $V$  du système racinaire est donné par la formule :  $V = V_1 - V_0$

## II-3-Effets des hydrocarbures sur les propriétés biologiques du sol

### II.3. 1. Test de germination

Après la récolte, nous avons procédé à un test de germination d'une plante dans les échantillons du sol utilisés dans l'expérience, le semi est réalisé en mettant dans chaque boîte de pétri 100 graines de blé, puis nous les avons fait germer dans des conditions favorables avec un arrosage régulier dans les différents échantillons.

Le but de ce test est d'évaluer l'impact et l'effet de la concentration des hydrocarbures contenus dans le sol sur la germination des graines de blé et d'évaluer le degré de remédiation dans les différents échantillons de sol.

Il consiste à établir un pourcentage de germination dans chaque lot en démembrant les graines germées dans les sols contaminés et traités par la phytoremédiation.

$$\text{Taux de germination (\%)} = \text{nbr de graines germées} / \text{nbr totale des graines} \times 100$$

### II.3. 1. Elongation racinaire

Après le dénombrement des grains germés, nous avons pris 10 graines parmi celles qui sont germées pour mesurer leurs longueurs racinaires avant de les remettre à nouveau pour une

autre semaine. Après la récolte on mesure pour la deuxième fois la longueur des racines puis on calcule l'élongation racinaire qui se calcule de la façon suivante :

$$\text{Elongation} = \text{Longueur de la racine après la 2}^{\text{ème}} \text{ semaine} - \text{la longueur après 1}^{\text{ère}} \text{ semaine}$$

### **II.4. Effets des hydrocarbures sur les propriétés chimiques du sol**

#### **II.3.1. Effets sur le pH**

La mesure du pH constitue le test le plus sensible des modifications survenant dans l'évolution des sols (Clément et Pieltain, 2009).

La détermination du pH se fait par électrométrie. Elle s'applique au moyen d'une électrode en verre, celle-ci convient pour tout type de solution. Après tamisage à 2 mm, peser 20g de sol et le mettre dans un bêcher, ajouté 50 ml d'eau distillée au rapport de 2/5 (masse/volume); rincer l'électrode avec l'eau distillée puis mettre le bêcher sous agitation magnétique, pendant deux minutes, on laisse au repos statique pendant deux heures ; à la fin introduire l'électrode dans la solution à analyser, mettre en marche le potentiomètre puis lire la valeur affichée sur l'appareil après sa stabilisation.

#### **II.3.2. Conductivité électrique (CE)**

La conductivité électrique d'une solution du sol est un indice des teneurs en sels solubles dans ce sol, elle exprime approximativement la concentration des solutés ionisables présentes dans l'échantillon, c'est-à-dire son degré de salinité (Clément et Pieltain, 2009).

Le sol a été mélangé avec de l'eau distillé au rapport de 1/5 (masse/volume), puis agité pendant 2 minutes puis laissé décanter pendant 30 minutes, et fait la mesure avec un conductimètre (LF42).

### **2-5- Evaluation de la quantité des hydrocarbures dans le sol et dans les plantes**

L'évaluation s'effectue par l'extraction des hydrocarbures contenus dans le sol contaminé à 5% non cultivé et le sol contaminé à 5% cultivé par le pois, le but de cette extraction est d'évaluer la quantité des hydrocarbures restante dans le sol après culture en comparaison à celles de ce même sol avant culture. Elle se fait par dichloro-méthyle. 10g de sol sont pesés de chaque pot (contaminés cultivé et non cultivé), auxquels sont ajoutés 50ml de l'hexane et dichloro-méthyle en agitation pendant deux heures.

Après centrifugation pendant 10mn à 5000 trs/m, les surnageant sont récupérés et laissés à évaporation totale. Après évaporation, les quantités d'hydrocarbures extraites sont pesées à l'aide d'une balance de précision.

**Taux d'inhibition :**

Afin d'évaluer la résistance des trois espèces végétales à savoir la fève, le pois et la luzerne, nous avons procédé à calculer le taux d'inhibition :

$$\text{Taux d'inhibition} = 100 - ((\text{Valeur des sols contaminés} / \text{valeur des sols témoins}) \times 100)$$

**II.3.3. L'analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)**

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier est une méthode rapide qui donne des informations quantitative et qualitatives en caractérisant les groupements fonctionnels et des composantes majeures des différents échantillons de sol et de végétal.

Cette méthode analytique est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau. La spectroscopie infrarouge produit un rayonnement dont la fréquence (nombre d'onde) varie de 500 à 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et nous enregistrons une diminution de l'intensité réfléchié ou transmise. Un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre à un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier ce matériau (Anonyme, 2004).

Elle sert à évaluer les modifications des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures dans les sols contaminés dans les sols traités, et dans les plantes

Les échantillons de sol, et de végétal sont broyés et séchés à une température de 40°C durant 24 heures puis mélangés avec le bromate de potassium (KBr) pour réaliser les pastilles à analyser.

**Méthodes d'analyse statistique**

Le traitement des résultats des analyses et des mesures a été réalisé avec le logiciel R. Tous ces résultats ont été soumis à une analyse de la variance pour la c. L'ANOVA est suivie du test de Newman et Keuls pour établir les groupes homogènes lorsque les différences entre les moyennes sont significatives. Le recours au test de Kruskal-Wallis s'effectue lorsque les données ne suivent pas la loi normale.

# *Résultats et discussions*

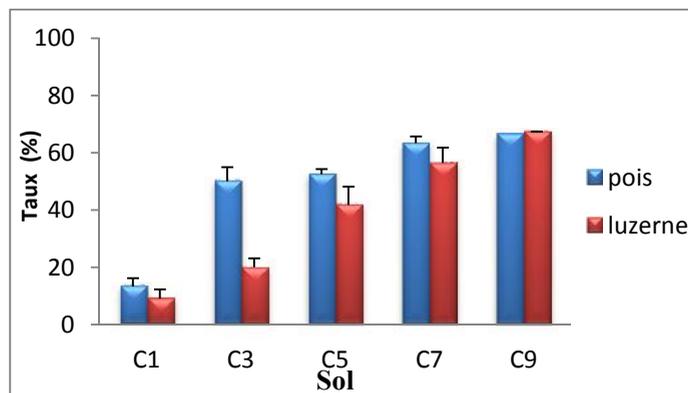
Pour évaluation des effets toxiques des différentes concentrations du pétrole brut sur la végétation, ainsi que la mise en évidence de l'efficacité des deux espèces à décontaminer le sol, nous avons obtenu les résultats suivants.

## 1. Effets du pétrole sur la croissance du végétal

Les plants de du pois et la luzerne ont été affectés par la présence du pétrole aux diverses concentrations dans le sol. Des différences ont été remarquées au niveau de leur morphologie au cours de leur croissance.

### 1.1. Taux de la levée

La figure représente le taux d'inhibition de la levée du pois et de la luzerne sur le sol contaminé aux différentes concentrations par le pétrole brut.



**Figure 6:** Taux de levée du pois et la luzerne sur le sol contaminé à des différentes concentrations par le pétrole brut.

la figure 6 montre que le taux d'inhibition varie différemment en fonction de l'augmentation de la concentration par le pétrole brut pour les deux espèces (luzerne, pois).

Nous constatons que le taux de levée des graines de la luzerne est élevé dans un sol contaminé à 1% où nous avons enregistré un taux d'inhibition très faible qui est de 9.08%, comparativement à celles observées dans les autres concentrations. A 9% nous avons enregistré un taux d'inhibition très élevé (67.27%) ce qui explique le taux de levée très faible.

Concernant le pois nous constatons que le taux d'inhibition enregistré est très important à partir de 3% (50%), ce qui explique que le pois est moins résistant dans un sol contaminé par le pétrole brut.

L'analyse de la variance (Annexe 1) du taux d'inhibition de la levée des deux espèces révèle qu'il y a une différence très hautement significative pour la concentration et une différence hautement significatives pour l'espèce et non significative pour l'interaction (Tableau). Ceci signifie que le taux de levée diminue à la présence du pétrole brut dans le sol, et que les graines de ces deux espèces ne réagissent pas de la même façon à la pollution par pétrole brut.

Le test de Newman et Keuls (tableau 4) a fait ressortir 5 groupes homogènes. Le groupe A contient le sol le plus contaminé à 9%, le groupe B contient le sol C à 7%, le groupe C contient le sol

contaminé à 5 %, et le groupe D contient le sol contaminé à 3% et le groupe E contient le sol le moins toxique 1%.

**Tableau 4:** Le test de Newman et Keuls pour les groupes homogènes.

Libellés	Moyenne	Groupe
C9	67.07000	A
C7	59.15000	B
C5	46.08800	C
C3	34.99667	D
C1	11.20833	E

D'après ces résultats, les différentes concentrations du pétrole dans le sol ont provoqué un effet toxique sur la germination des graines de la luzerne et du pois.

Après avoir comparé les résultats des cinq concentrations, nous constatons que le pétrole induit une inhibition des graines surtout où les concentrations sont élevées ; qui peut être due à l'atteinte de l'embryon de la graine, ou encore aux modifications des caractéristiques physico-chimiques du sol.

La comparaison des résultats de ces deux espèces nous a permis de remarquer que les graines de la luzerne ont résisté plus que le pois aux différentes concentrations du pétrole.

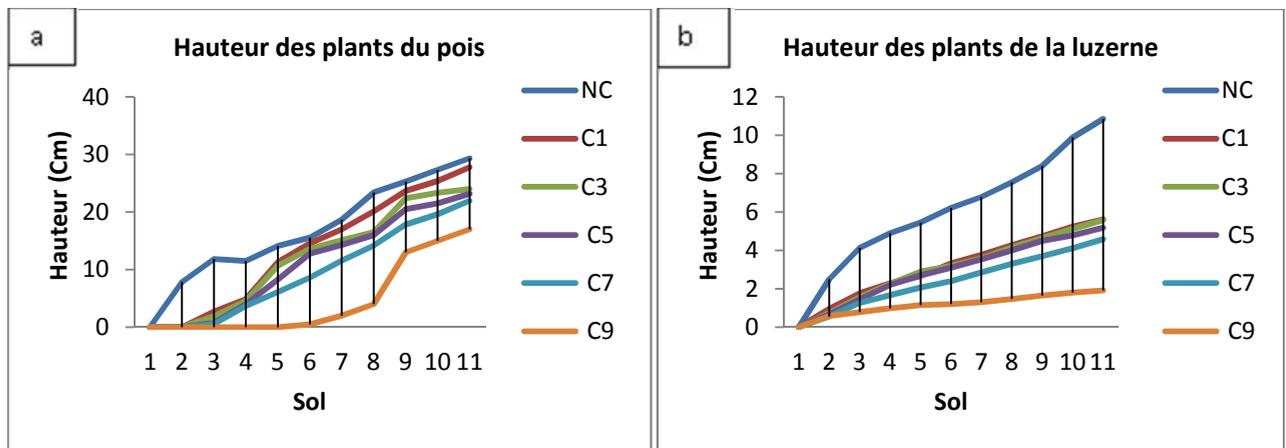
D'après d'Udo et Fayemi, (1995) in Chaineau et al., (1997) les hydrocarbures peuvent entrer dans les graines, empêcher les réactions métaboliques et tuer l'embryon par une toxicité aiguë directe. Il y a également une forte évidence que l'inhibition de la germination soit corrélée à l'hydrophobie des hydrocarbures qui empêche et/ou réduit les échanges d'eau et de gaz surtout l'oxygène.

Le pois est moins résistant que la luzerne à la présence des hydrocarbures. Bergues,(1986), a signalé que les effets des hydrocarbures sur la flore dépendent aussi de l'espèce végétale et du stade physiologique de la végétation.

Il est également important de connaître le niveau de sensibilité de la graine dans un sol contaminé. Il semble que les hydrocarbures soient plus toxiques sur des graines ayant besoin de bonnes conditions d'aérobiose pour germer (maïs) que sur des graines pouvant germer en conditions d'anaérobiose (riz). La plupart des hydrocarbures n'ont pas d'effets irréversibles sur la germination de la graine telles que la carotte, le trèfle, la luzerne, la laitue, le tournesol (Bergue et Mérienne, 1986).

## 1.2. Hauteur des plants

La figure 7 illustre l'évolution hebdomadaire de la hauteur des plants de la luzerne et du pois sur le sol contaminé aux différents par le pétrole brut.



**Figure 7 :** Evolution de l'hauteur du pois (a) et de la luzerne (b) sur le sol contaminé aux différentes concentrations par le pétrole brut.

Les résultats démontrent que la hauteur diminue avec l'augmentation de la concentration du pétrole pour les deux espèces. On remarque aussi que les moyennes des hauteurs du pois sont supérieures à celles de la luzerne.

Au bout de la onzième semaine, nous avons remarqué que les plants de la luzerne ont atteint une moyenne de 10,86 cm sur le sol témoin, et ne dépasse pas 6 cm pour les concentrations (C1%, C3%, C5%, C7%, et C9%). Pour le pois, le rythme de la croissance est important sur le sol témoin où la hauteur a atteint 29,37 cm. Par contre le rythme de croissance est beaucoup moins important sur le sol contaminé que celui enregistré sur le sol témoin avec un retard de levée à partir de la sixième semaine sur le sol contaminé à 9%.

L'analyse de la variance (Annexe 3) a révélé des différences très hautement significatives pour les concentrations et l'espèce, ce qui montre que le milieu contaminé par les hydrocarbures est défavorable au développement du pois et de la luzerne.

Le test de Newman et Keuls (tableau 5) fait ressortir 4 groupes homogènes. Le groupe A contient le sol le plus contaminé à 9%, le groupe B contient le sol C à 7%, le groupe C contient les sols les moins contaminés et le groupe D contient le sol contaminé à 1% le moins toxique.

**Tableau 5:** Le test de NEWMAN et KEULS pour les groupes homogènes

Libellés	Moyenne	Groupe
C9	62.990	A
C7	44.932	B
C5	38.830	C
C3	33.365	
C1	26.645	D

Chaîneau et al., (1997) ont associé la réduction de la croissance des plantes lors d'une contamination du sol par les hydrocarbures, au déficit alimentaire causé par les hydrocarbures. Ils ont montré également que la concentration élevée de pétrole brut a un effet sur la physiologie du végétal.

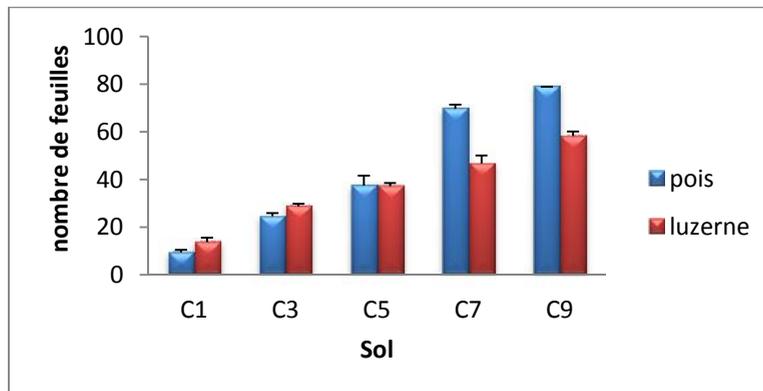
D'après chaîneau et al., (2000) la hauteur diminue avec l'augmentation de la concentration en hydrocarbures. Cela est dû à la phytotoxicité des hydrocarbures qui inhibent, pour une longue période, de développement de la végétation.

Chaineau *et al.* (1996), les hydrocarbures peuvent provoquer une diminution de la teneur du sol en phosphore (P) et une augmentation en carbone organique total.

Ces résultats peuvent être dus à l'effet des hydrocarbures sur la disponibilité des éléments nutritifs. D'après Guiddens (1976), quelque soit la concentration en hydrocarbures, la croissance des plantes est réduite. Cette réduction serait due à un manque d'assimilation d'eau et d'éléments nutritifs et au changement des propriétés du sol.

### 1.3. Nombre de feuilles

La figure 8 représente le taux d'inhibition de nombre de feuilles des deux espèces (luzerne, pois) sur le sol contaminé à des différentes concentrations par le pétrole brut.



**Figure 8:** Taux d'inhibition de nombre de feuilles du pois et la luzerne sur le sol contaminé à différentes concentrations par le pétrole brut.

Le taux d'inhibition du nombre de feuilles des deux espèces augmente en fonction de l'augmentation de la concentration du pétrole.

D'après ces résultats, le nombre de feuilles est fortement réduit dans le sol contaminé par rapport au sol témoin et cela serait dû à l'effet toxique des hydrocarbures des deux plantes (la luzerne, le pois), où le taux d'inhibition enregistré est très élevé dans le sol contaminé à 7% (69.63) et 9% (79.06) pour le pois, par contre pour la luzerne nous avons remarqué une inhibition moins forte par rapport au pois, où nous avons enregistré (46.49) à 7% et (58.24) à 9%. Cette réduction du nombre de feuilles peut être due à la carence en éléments nutritifs notamment la carence en azote qui serait due à la diminution du nombre de nodosités dans les racines des plantes cultivés dans le sol contaminé.

L'analyse de la variance (Annexe 5) a révélé des différences très hautement significatives pour les concentrations et l'interaction, et une différence significative pour l'espèce.

Le test de Newman et Keuls (tableau 6) a fait ressortir 5 groupes homogènes. Le groupe A contient le sol le plus contaminé à 9%, le groupe B contient le sol contaminé à 7%, le groupe C contient le sol contaminé à 5%, le groupe D contient le sol contaminé à 3%, et le groupe E contient le sol contaminé à 1 % le moins toxique.

**Tableau 6:** Le test de NEWMAN et KEULS pour les groupes homogènes.

Libellés	Moyenne	Groupe
C9	65.18000	A
C7	55.86800	B
C5	37.24000	C
C3	26.67000	D
C1	11.52667	E

D’après les résultats obtenus par Tawachi et Takilt (2013), qui ont travaillé sur l’effet de différentes concentrations de pétrole sur la luzerne, le nombre de feuilles par plant diminue avec l’augmentation de la concentration en pétrole. Elles ont observé aussi que le nombre de nodules sur les racines de la luzerne est absent à partir d’une concentration de 1%.

Selon Chaineau et *al.* (1996), les hydrocarbures peuvent provoquer une diminution de la teneur du sol en phosphore (P) et une augmentation en carbone organique total.

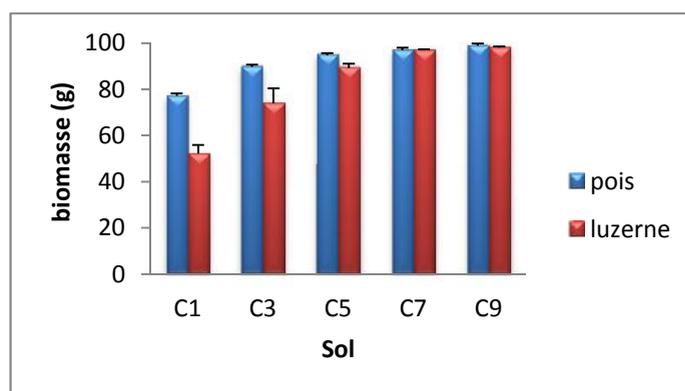
Ces résultats peuvent être aussi dus au changement des propriétés du sol qui influent sur le développement du système foliaire. Selon Njoku et *al.* (2009), la pollution du sol par le pétrole brut entraîne une faible infiltration de l’eau dans le sol, ce qui va affecter le développement des feuilles.

#### 1.4. Biomasse végétale

L’effet toxique des hydrocarbures sur le développement de la végétation est bien observé par le calcul du taux d’inhibition de la biomasse aérienne et racinaire dans les figures 9 et 10.

##### 1.4.1. Biomasse aérienne

La figure 9 représente le taux d’inhibition de la biomasse aérienne des deux espèces (luzerne, pois) sur le sol contaminé à des différentes concentrations par le pétrole brut.



**Figure 9:** Taux d’inhibition de la biomasse aérienne du pois et la luzerne sur le sol contaminé à différentes concentrations.

Le taux d’inhibition de la biomasse aérienne des deux espèces augmente en fonction de l’augmentation de la concentration du pétrole.

Le pois présente respectivement un taux d'inhibition de la biomasse aérienne très important 77.15 sur le sol contaminé à 1% par rapport à celui enregistré pour la luzerne avec une valeur 52.17, et à partir de 3% nous remarquons que les deux espèces réagissent de la même manière à la présence des hydrocarbures.

L'analyse de la variance (Annexe 7) pour la biomasse aérienne de deux espèces a révélé qu'il ya des différences très hautement significatives pour les concentrations et l'espèce.

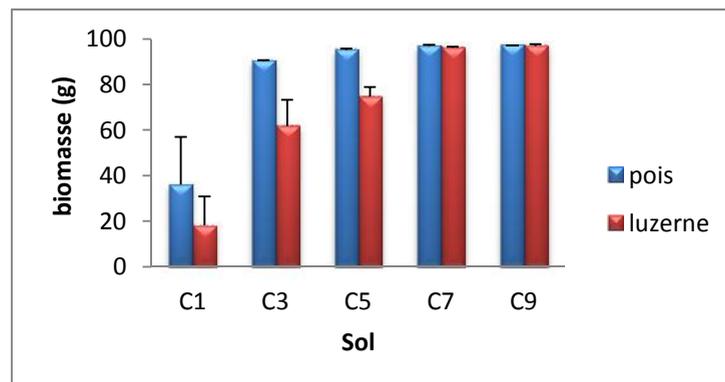
Le test de Newman et Keuls (tableau 7) a fait ressortir 3 groupes homogènes. Le groupe A contient les sols contaminés à 5%, 7% et 9%, le groupe B contient le sol contaminé à 3%, le groupe C contient le sol contaminé à 1%, le moins toxique.

**Tableau 7:** Le test de NEWMAN et KEULS pour les groupes homogènes.

Libellés	Moyennes	Groupe
C9	98.18333	A
C7	96.95200	
C5	91.34000	
C3	81.80167	B
C1	64.66167	C

## 1.4.2. Biomasse racinaire

La figure 10 évoque le taux d'inhibition de la biomasse racinaire des deux espèces (luzerne, pois) à des différentes concentrations par le pétrole brut.



**Figure 10:** Taux d'inhibition de la biomasse racinaire du pois et la luzerne sur le sol contaminé aux différentes concentrations.

La luzerne présente un taux d'inhibition de la biomasse racinaire moins important 18.17 sur le sol contaminé à 1% par rapport à celui enregistré pour le pois avec une valeur 36.07, on remarque que la différence du taux d'inhibition est la même sur les sols contaminés à 3% et 5%.

L'analyse de la variance (Annexe 9) pour la biomasse racinaire a révélé qu'il ya des différences très hautement significatives pour les concentrations et une différence non significative pour l'espèce et l'interaction.

Le test de Newman et Keuls (tableau 8) fait ressortir 2 groupes homogènes. Le groupe A contient les sols contaminés à 3%, 5%, 7% et 9%, le groupe B contient le sol contaminé à 1%.

**Tableau 8:** Le test de NEWMAN et KEULS pour les groupes homogènes.

Libellés	Moyenne	Groupe
C9	96.940	A
C7	96.454	
C5	82.884	
C3	75.910	
C1	27.125	B

D'après les résultats obtenus dans les figures 9 et 10, nous remarquons que la biomasse végétale de la luzerne cultivée dans les différents sols pollués varie en fonction de la concentration en hydrocarbures, la concentration en hydrocarbures diminue et la biomasse végétale de la luzerne augmente ce qui indique que la biomasse végétale est liée à la présence des hydrocarbures dans le sol.

L'effet néfaste des contaminants sur la biomasse végétale est probablement dû à la perturbation de la nutrition hydrominérale du végétal, ainsi qu'à l'inhibition de la croissance racinaire qui peut mener à une basse absorption de l'eau ce qui induit une diminution du développement du végétal. En effet, l'accroissement des racines permet à la plante de pouvoir subvenir à ses besoins en azote sachant que l'azote est l'un des éléments essentiels pour la croissance des végétaux.

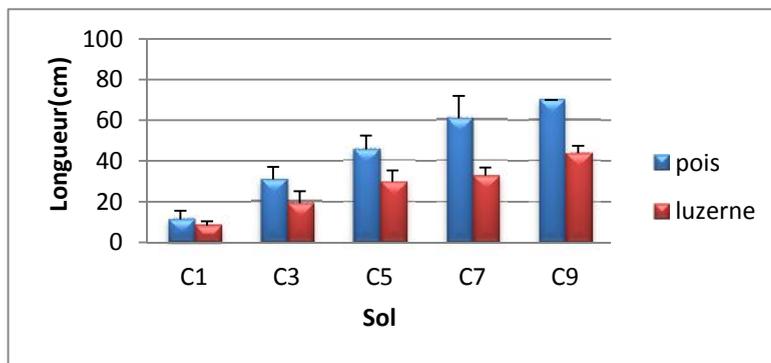
D'après les résultats d'Ait tayeb et Titouche (2011), la teneur du sol contaminé en humidité est beaucoup plus importante dans le sol contaminé par le pétrole brut par rapport au sol témoin du fait que l'hydrocarbure est une huile visqueuse qui rend difficile l'évapotranspiration du sol et accroît sa rétention en eau. L'augmentation de la teneur du sol en humidité provoque une asphyxie du végétal en remplissant les pores du sol en eau à la place de l'air.

Chaineau et *al.* (1997), ont montré que la concentration élevée du pétrole brut a un effet sur la physiologie du végétal. La biomasse végétale étant un critère de mesure du rendement au niveau d'un sol contaminé par les hydrocarbures, l'effet toxique des hydrocarbures sur la partie aérienne s'exprime par un retard significatif de la croissance, cette diminution se traduit par la réduction du poids sec.

Morot (1997) a noté que la nutrition azotée limitait généralement la croissance, le développement et le rendement du végétal. Cette réduction de la biomasse végétale nous laisse penser aussi au sol qui est la source d'une grande partie des éléments nécessaires au développement des végétaux, le changement de ses propriétés (changement de la teneur en humidité, en pH et en matière organique) influence la croissance végétale.

### 1.5. Longueur racinaire

La figure 11 évoque le taux d'inhibition de la longueur racinaire des deux espèces (luzerne, pois) à des différentes concentrations par le pétrole brut.



**Figure 11:** Taux d’inhibition longueur racinaire du pois et la luzerne sur le sol contaminé à différentes concentrations.

Le taux d’inhibition de la longueur racinaire des deux espèces augmente en fonction de l’augmentation de la concentration du pétrole.

Nous constatons que la longueur des racines varie selon le gradient de concentration en hydrocarbures. Le taux d’inhibition de la luzerne cultivée est faible dans les sols contaminé à 1% (8.35) par contre à 9% le taux d’inhibition est élevé (43.78).

Le taux d’inhibition de la longueur racinaire du pois augmente de plus en plus, à 9% nous avons enregistré une valeur très élevée (70.12), cela est dû à la forte concentration en hydrocarbures. C’est la luzerne qui est la plus résistante aux hydrocarbures par rapport au pois.

L’analyse de la variance (Annexe 10) a révélé des différences très hautement significatives pour les concentrations et une différence hautement significative pour l’espèce et non significative pour l’interaction.

Le test de Newman et Keuls (tableau 9) a fait ressortir 4 groupes homogènes. Le groupe A contient les sols les plus contaminés (7%, 9%), le groupe AB contient le sol contaminé à 5%, le groupe B contient le sol contaminé à 3%, et le groupe C contient le sol contaminé à 1 % le moins toxique.

**Tableau 9:** Le test de NEWMAN et KEULS pour les groupes homogènes.

Libellés	Moyenne	Groupe
C9	52.56000	A
C7	44.08800	
C5	34.10400	AB
C3	25.01833	B
C1	9.86000	C

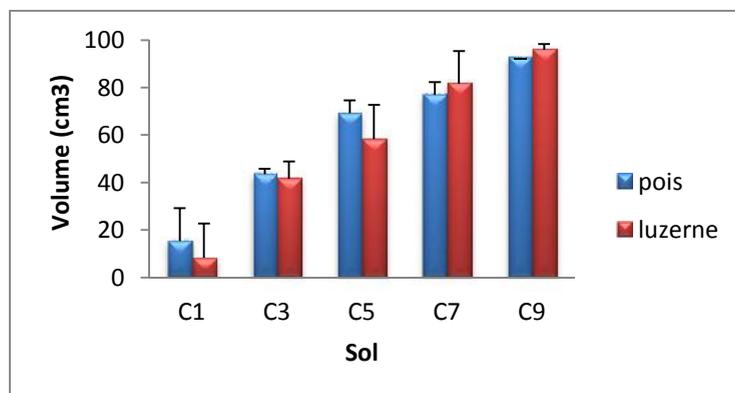
Les racines se trouvent dans le sol, donc elles sont soumises directement au polluant et aux effets qu’ils provoquent sur les propriétés du sol.

D’après Brunete (2008), la perte réduite de la transpiration due à l’eau et la réduction du taux d’absorption de l’eau dans le sol ont comme conséquence l’augmentation de l’humidité du sol.

Selon Norine, (2007) la diminution de la croissance racinaire peut être due aux propriétés hydrophobes des hydrocarbures qui peuvent limiter l’effet bénéfique de l’association plante-micro-organismes.

### 1.6. Volume racinaire

La figure 12 évoque le taux d'inhibition du volume racinaire des deux espèces (luzerne, pois) à des différentes concentrations par le pétrole brut.



**Figure 12 :** Volume racinaire du pois et la luzerne sur le sol contaminé à différentes concentrations.

Le taux d'inhibition du volume racinaire des deux espèces augmente avec l'augmentation de la concentration du pétrole.

Nous constatons que le volume des racines varie selon le gradient de concentration en hydrocarbures. Le taux d'inhibition de la luzerne cultivée est faible sur le sol contaminé à 1% (8.33) par contre à 9% le taux d'inhibition est élevé (95.87). Le taux d'inhibition du volume racinaire du pois augmente à partir de 3%, et à 9% nous avons enregistré une valeur très élevée (92.3), cela est dû à la forte concentration en hydrocarbures.

L'analyse de la variance (Annexe 12 ) a révélé des différences très hautement significatives pour les concentrations et non significative pour l'espèce et l'interaction.

Le test de Newman et Keuls (tableau 10) a fait ressortir 5 groupes homogènes. Le groupe A contient les sols les plus contaminés à 9%, le groupe B contient le sol contaminé à 3%, le groupe C contient le sol contaminé à 5%, et le groupe D contient le sol contaminé à 3%, et le groupe E contient le sol contaminé à 1% moins toxique.

**Tableau 10:** Le test de NEWMAN et KEULS pour les groupes homogènes.

Libellés	Moyenne	Groupe
C9	94.68333	A
C7	79.76800	B
C5	62.69000	C
C3	42.63000	D
C1	11.85833	E

A partir de cette analyse, nous constatons que la présence des hydrocarbures dans le sol induit une réduction de la croissance racinaire. Ces résultats montrent que le milieu favorable pour la croissance des racines est le sol non contaminé où nous avons remarqué la présence d'un système racinaire très développé avec de nombreuses ramifications tandis que les cultures des sols contaminés comportent une partie racinaire moins développée et moins ramifiée, ce qui explique la diminution du volume

racinaire dans le sol contaminé. L'atteinte des racines peut être due au changement des propriétés du sol et/ou à la diminution de la quantité d'éléments nutritifs qui sont essentiels pour leur développement.

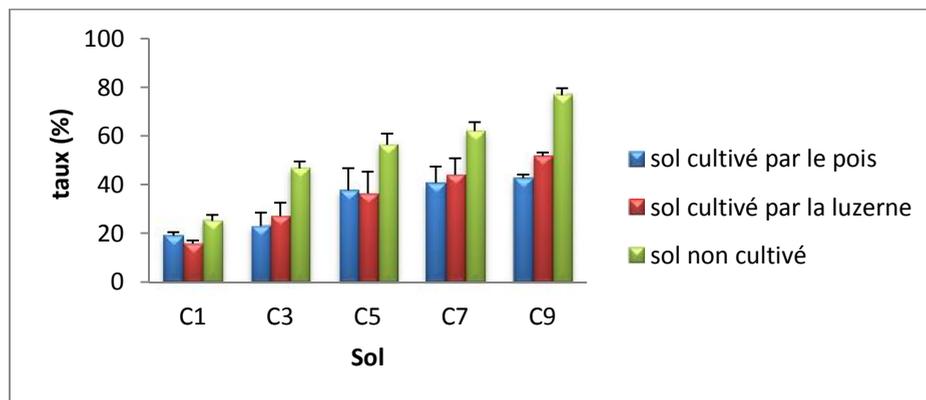
Selon Norine (2007), la diminution de la croissance racinaire peut être due aux propriétés hydrophobes des hydrocarbures qui peuvent limiter l'effet bénéfique de l'association plante-micro-organismes qui est basée sur les flux de substance solubles. Cette atteinte des racines ne permet pas à la plante d'augmenter sa surface de contact avec le milieu de culture pour optimiser la nutrition minérale.

## 7- Bio-Essai

On a effectué ce test dans le but d'évaluer l'effet de la phytoremédiation

### 7-1- Taux de la germination

La figure 13 représente le taux d'inhibition de la germination du blé dur sur les sols contaminés à des différentes concentrations cultivés par la luzerne et le pois et non cultivé.



**Figure 13 :** Taux d'inhibition de la germination du blé dur dans les sols contaminés cultivé par les deux espèces et sol contaminé non cultivé.

Cette figure montre que le taux d'inhibition varie différemment en fonction de l'augmentation de la concentration par le pétrole brut pour le blé dur.

Nous constatons que le taux de levée des graines du blé est élevé sur les deux sols contaminés à 9% cultivés par les deux espèces où le taux d'inhibition très faible d'une valeur de 19 dans le sol cultivé par le pois, 15.66 dans le sol cultivé par la luzerne et 25 dans le sol non cultivé. A partir de 3% nous avons constaté un taux d'inhibition très important (42.66-51.66-76.66) sur tous les sols cultivés et non cultivés.

L'analyse de la variance (Annexe 13) a révélé des différences très hautement significatives pour les concentrations et l'espèce, non significative pour l'interaction.

Le test de Newman et Keuls (tableau 10) a fait ressortir 5 groupes homogènes. Le groupe A contient les sols les plus contaminés à 9%, le groupe AB contient le sol contaminé à 7%, le groupe B contient le sol contaminé à 5%, et le groupe C contient le sol contaminé à 3%, et le groupe D contient le sol contaminé à 1% moins toxique.

**Tableau 10:** Le test de NEWMAN et KEULS pour les groupes homogènes.

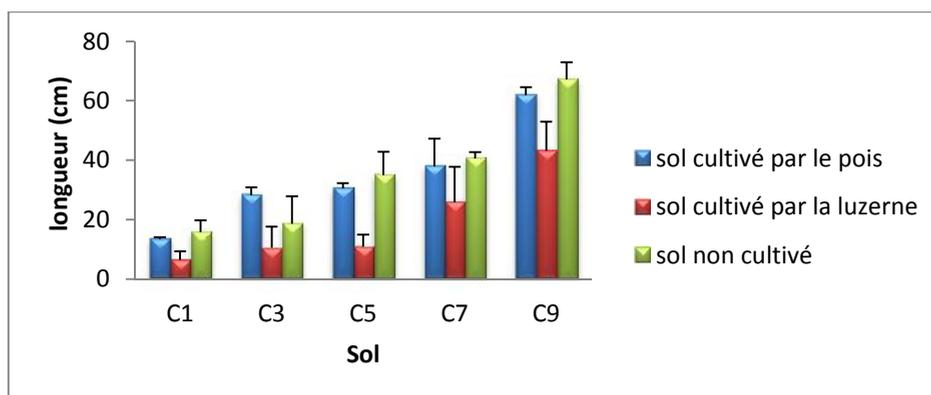
Libellés	Moyenne	Groupe
C9	57.00000	A
C7	48.88889	AB
C5	43.44444	B
C3	32.22222	C
C1	19.88889	D

Les hydrocarbures ont un effet toxique sur le taux de levée du blé . Selon Udo et Fayemi, 1995), les hydrocarbures peuvent entrer dans les graines, empêcher les réactions métaboliques et tuer l’embryon par une toxicité aiguë. Il y a également une forte évidence que l’inhibition de la germination

soit corrélée à l’hydrophobie des hydrocarbures qui empêche et /ou réduit les échanges d’eau et de gaz surtout l’oxygène. Les hydrocarbures ont un effet néfaste sur son développement des végétaux et cela est confirmé par l’arrêt de sa croissance. CHAINEAU et *al.*, (1997)

### 7-2- Longueur racinaire

La figure14 évoque le taux d’inhibition de la longueur racinaire du blé dans le sol cultivé par (luzerne, pois) contaminé à des différentes concentrations par le pétrole brut.



**Figure 14:** Longueur racinaire du pois et la luzerne sur le sol contaminé à différentes concentrations.

Nous constatons que le taux d’inhibition de la longueur racinaire du blé dur varie en fonction de l’augmentation de la concentration, il est moins important sur le sol cultivé par la luzerne comparativement à celui enregistré sur le sol cultivé par le pois et sol non cultivé. Ce qui signifie la diminution de la croissance racinaire peut être dû à la présence des hydrocarbures dans le sol, à cet effet nous remarquons que le sol cultivé par la luzerne est décontaminé par rapport au sol cultivé par le pois

L’analyse de la variance (Annexe 17 ) a révèle des différences très hautement significatives pour les concentrations et une différence significative pour l’espèce, et non significative pour l’interaction.

Le test de Newman et Keuls (tableau 11) a fait ressortir 5 groupes homogènes. Le groupe A contient les sols les plus contaminés à 9%, le groupe B contient le sol contaminé à 7%, le groupe BC contient le sol contaminé à 5%, et le groupe C contient le sol contaminé à 3% et C 1%.

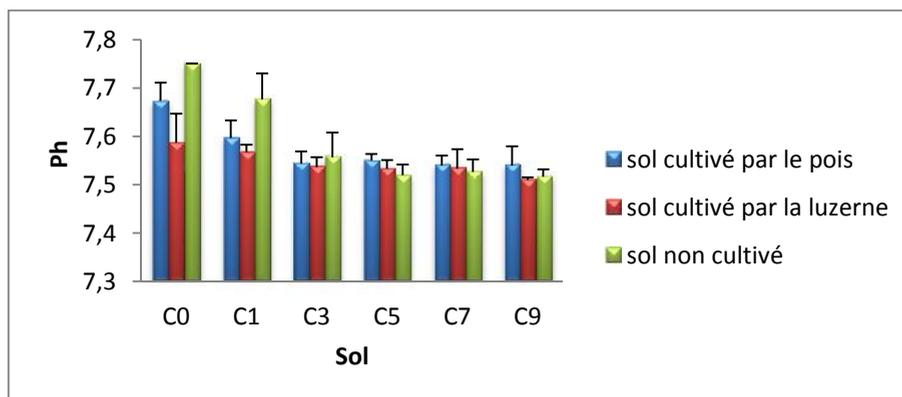
**Tableau 11:** Le test de NEWMAN et KEULS pour les groupes homogènes de l'élongation racinaire des deux espèces.

Libellés	Moyenne	Groupe
C9	57.36778	A
C7	34.73111	B
C5	25.41222	BC
C3	19.08222	C
C1	11.88111	

D'après ces résultats( Annexe 18) nous avons remarqué ue le sol cultivé par la luzerne est décontaminé par rapport au sol cultivé par le pois.

### 7- Effet des hydrocarbures sur le pH du sol après culture

La figure 15 représente le pH du sol contaminé cultivé par le pois et la luzerne et sol contaminé non cultivé



**Figure 15 :** pH des sols contaminés aux différentes concentrations cultivés par le pois et la luzerne sur le sol contaminé non cultivé.

Les résultats enregistrés, indiquent que les hydrocarbures utilisés provoquent une légère diminution du pH au niveau des différents sols contaminé portant le pois et la luzerne et dans le sol non cultivé.

Le sol des cultures non contaminé cultivé présente un pH de 7,67 pour la culture du pois, et 7,58 pour la culture de la luzerne et 7.75 sur le sol non cultivé. 7,54 sur le sol contaminé à 9% pour le pois, et 7,51 sur le sol contaminé pour la luzerne, et 7.51 sur le sol contaminé non cultivé.

L'analyse de la variance( Annexe 20) de a révélé des différences très hautement significatives pour les concentrations et l'espèce et non significative pour l'interaction.

Le test de NEWMAN ET KEULS (tableau VI) a fait ressortir 2 groupes homogènes. Le groupe A contient les sols non contaminés et contaminé à 1%, le groupe B contient les sols contaminés à, 3%,5% ,7%, et à 9%.

**Tableau 12** : Le test de NEWMAN et KEULS pour les groupes homogènes.

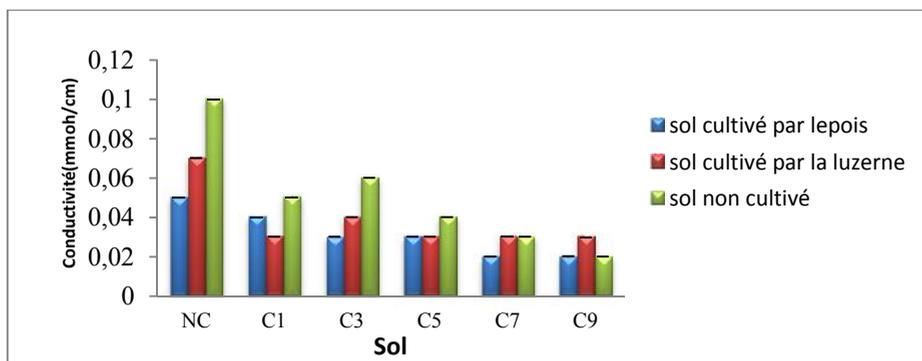
Sol	Moyenne	Groupe
C0	7.670000	A
C1	7.613333	
C3	7.548889	B
C5	7.545556	
C7	7.536667	
C9	7.534444	

Nous remarquons que le pH du sol non cultivé est classé dans le groupe A, alors que le pois dans le groupe B, et la luzerne dans le groupe C (voir annexe).

D'après (Njuko et al., 2009) la diminution du pH est due à la dégradation des hydrocarbures, elle pourrait être dû à l'accumulation des acides organiques produit lors de la dégradation dans le sol.

### 8- Effet des hydrocarbures sur CE du sol après culture

La figure 16 représente la CE du sol contaminé cultivé par le pois et la luzerne et sol contaminé non cultivé



**Figure16** : Conductivité du sol contaminé cultivé par le pois et la luzerne et le sol non cultivé.

Les résultats enregistrés, indiquent que les hydrocarbures utilisés provoquent une déminution de la CE au niveau des différents sols contaminé portant le pois et la luzerne et dans le sol non cultivé.

Le sol des cultures non contaminé cultivé présente une CE de 0.07 pour la culture du pois, et 0.05 pour la culture de la luzerne et 0.1 sur le sol non cultivé. 0.02 sur le sol contaminé à 9% pour le pois, et 0.03 sur le sol contaminé pour la luzerne, et 0.02 sur le sol contaminé non cultivé.

L'analyse de la variance (Annexe 21) a révélé qu'il n'y a pas des différences significatives pour les concentrations, l'espèce et l'interaction.

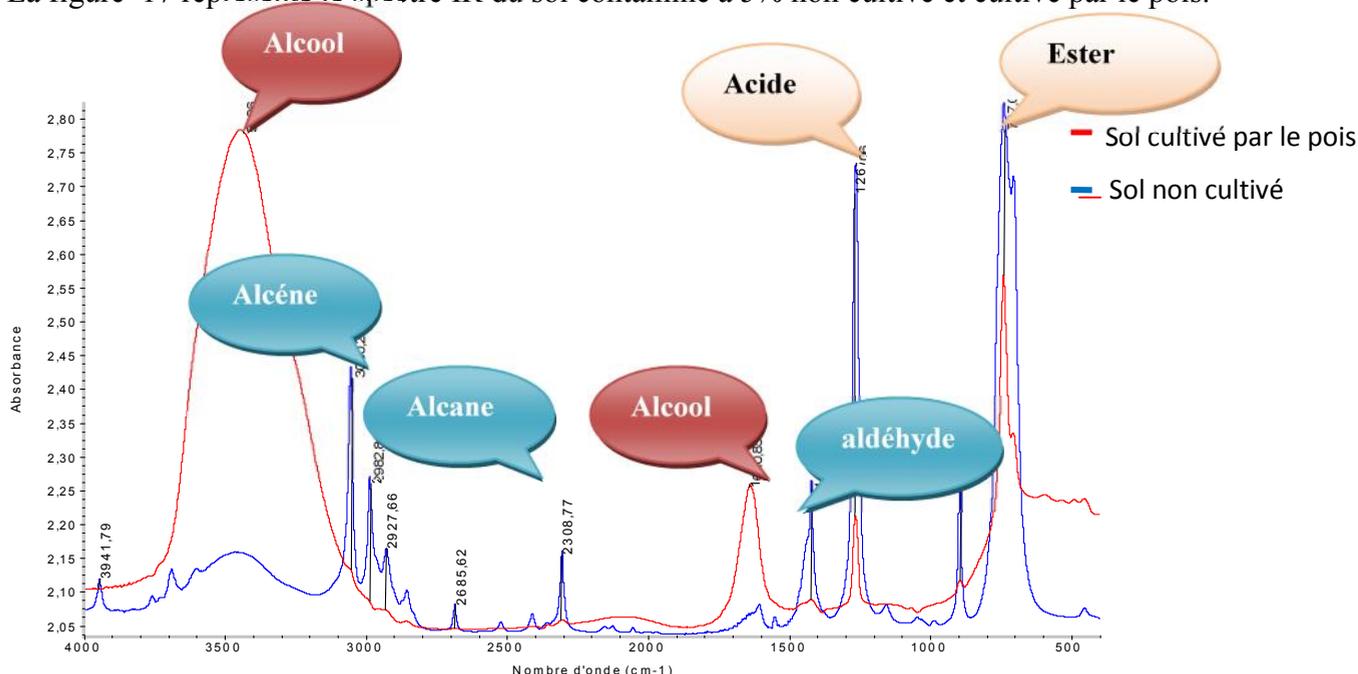
Selon les travaux réalisés par Khajehnouri, (2011) sur les propriétés électriques des sols contaminés par les hydrocarbures, a montré que la conductivité électrique du sol contaminé décroît avec l'augmentation de la saturation en hydrocarbure. La conductivité électrique, en principe, sensible à la composition minérale du sol, granulométrie, teneur en eau, chimie du fluide interstitiel, la teneur en métal et le degré de présence d'hydrocarbures. Par contre (Chaineau et al, 1999) note une

augmentation de la conductivité électrique que entrainera l'inhibition de certaines plantes très sensibles a la présence des sels.

## 9. Analyse par la spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).

Cette méthode d'analyse basée sur les énergies de liaisons (vibration, rotation, élongation), toute modification au niveau des liaisons chimiques de l'huile de pétrole entraine un changement dans le spectre.

La figure 17 représente le spectre IR du sol contaminé à 5% non cultivé et cultivé par le pois.



**Figure 17** : spectre FTIR du sol contaminé à 5% non cultivée et cultivé par le pois.

L'analyse par spectroscopie à infrarouge de sol contaminé par les différentes concentrations du pétrole, montre une modification des différentes bandes caractéristiques des groupements fonctionnels relatifs au pétrole ainsi que l'intensité des pics. (Voir Tableau).

Le spectre IR du sol contaminé avant la culture du pois fait apparaître une série de pics dont, le plus intense à  $737.02\text{ cm}^{-1}$  correspond au groupement "S-ou" de la fonction Esters et les moins intenses dont le pic à  $1267.06\text{ cm}^{-1}$  correspond au groupement O-C de la fonction Acides carboxylique & dérivés (vibrations d'élongation), l'apparition de quelques pics dont les plus importants sont à  $3050.21$  ;  $2982.81$  et  $2927.66$  qui correspondent respectivement aux groupements fonctionnels Alcène, Alcanes.

Nous avons noté pour le spectre du sol après la culture par le pois une diminution de l'intensité de la bande située à  $737.02\text{ cm}^{-1}$  et  $1267.06\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent aux groupements "S-ou" et O-C lié par rapport au sol non cultivé et nous avons enregistré une disparition de quelques pics dont les plus importants sont à  $3050.21$  ;  $2982.81$  et  $2927.66$  qui correspondent respectivement aux groupements fonctionnels Alcène, Alcanes.

Nous avons constaté que l'essai de la culture de pois en présence de l'huile de pétrole a montré un changement dans la composition chimique de ce dernier avec l'apparition d'un nouveau groupement

OH de la fonction Alcool. la dégradation de l'huile de pétrole entraîne une modification de l'intensité des pics, la diminution ou la disparition des pics spécifique au pétrole voir l'apparition de nouveaux métabolites. Cela peut être dû à l'utilisation du pétrole par cette plante ou leur dégradation par les micro-organismes du sol.

Schnoor et *al.* (2003) ont noté que le sol est une matrice complexe servant de support au développement des plantes et des micro-organismes qui se nourrissent des composés organiques ou inorganique. Les composés en excès peuvent alors être utilisés comme source d'énergie par les plantes et les micro-organismes.

Des études ont montré que les plantes sont capables d'absorber et de métaboliser un grand nombre de polluants organiques. En plus de l'absorption et du métabolisme des composés organiques, les plantes sécrètent des exsudats racinaires qui stimulent la bioremédiation microbienne au niveau de la rhizosphère (Abdelly, 2007).

# *Conclusion générale*

Par le biais d'une étude au laboratoire, quelques paramètres de la végétation ainsi que des propriétés d'un sol agricole contaminé par le pétrole brut ont été examinés. Cela a été observé en comparant un sol témoin et un sol contaminé à différentes concentrations par le pétrole brut, et a essayer de mettre en évidence la capacité de deux plantes légumineuses (la luzerne et le pois) à remédier ce sol contaminé.

D'après les résultats obtenus au cours de notre travail, nous pouvons conclure que l'action des hydrocarbures se traduit par :

- Une diminution du rendement végétal confirmé par : la diminution du taux de levée, de la hauteur des plantes, du nombre de feuilles par plant, de la longueur racinaire, du volume racinaire et de la biomasse végétale. Cela a été observé en comparant un sol témoin et un sol contaminé par le pétrole brut. La luzerne a supporté cette concentration élevée de pétrole contrairement au pois dont le taux de la levée et la croissance sont très faibles.

- une diminution de la conductivité électrique du sol contaminé avec l'augmentation de la saturation en hydrocarbure.

En parallèle ce travail nous a permis de montrer l'efficacité d'un traitement biologique qui est la phytoremédiation par le bio essai qui a montré que le sol contaminé à des différentes concentrations cultivé par la luzerne est décontaminé par rapport au sol cultivé par le pois.

Au regard de ces résultats, nous nous apercevons que les effets des hydrocarbures sont différents d'une espèce à l'autre et nous avons remarqué que la luzerne est plus résistante à la présence des hydrocarbures par rapport au pois.

Enfin, nous proposons quelques perspectives de recherche dont :

- La réalisation d'études sur les relations sol-plante-micro-organismes, ainsi que les mécanismes enzymatiques impliqués dans la dégradation et la transformation des hydrocarbures.
- D'effectuer des essais de plein champ sur des sols pollués afin d'étudier l'efficacité de ces techniques dans les conditions naturelles.
- La réalisation d'une étude sur la génétique de la luzerne qui permet la résistance de cette espèce a une certaine concentration des hydrocarbures dans le sol.

# *Références bibliographiques*

1. **ABDELLY C., 2007.** Bioremédiation / Phytoremédiation. Série N° 232. Université de Tunis Institut Supérieur de l'Éducation et de la Formation Continue Département des Sciences Naturelles
2. **AIT TAYEB Z. ET TITOUCHE H., 20011.** Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes (*Phaseolus vulgaris* L et *Cicer arietinum* L), du sol et essai de phytoremédiation. Memoire d'Ingénieur d'Etat en Biologie U.M.M.T.O. Pp 22-68.
3. **ARNAUD P., 2004.** Chimie organique. Edition DUNOD, Paris. 208p
4. **BATTAZ S., 2009.** Etude comparative de la dégradation d'une terre polluée par les hydrocarbures lourds. Mémoire Présenté à la faculté des sciences. Département des sciences fondamentales Pour l'obtention de diplôme de MAGISTER. 122 p.
5. **BERGUE J ; 1986-**La pollution des sols par les hydrocarbures. Service Physique-Génie urbain, laboratoire régional de Rouen PP 57-64
6. **Berg J.M et Merienne D., 1986.** La pollution des sols par les hydrocarbures.65p.
7. **BERRAMA R.,2004.** Semis direct. Memoire d'ingénieur d'Etat. INA. EL HARRACH. Alger. 86 p
8. **BRUNET, S., JACKSON, F., HOST, H., 2008.** Effects of sainfoin (*Onobryctus Vicufolia*) extract and monomers of condensed tannins on the association aboma sol nematode larveawith fundic explants. International Journal of Parasitology 38, 783-790
9. **CADIERE F. 2006 .**Traitement biologique des sols pollués ; recherche et innovation. Département sites des sols pollués. Direction Déchets et sol- ADEME (Angers) pp 6-17
10. **CHAINEAU C.H., MOREL J.L. et OUDOT J.,1996.** Land Treatment of Oil-Based Drill Cuttings in an agricultural Soil. J. Environ. Qual. V 25, pp 858- 867.
11. **CHAINEAU C.H., MOREL J.L. et OUDOT J., 1996.** phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbon .J .environ .Quali. . V 26, pp 1483- 1487.
12. **CHAINEAU C.H., MOREL J.L. et OUDOT J., 1997.** Phytotoxicity and plant Uptake of Fuel Oil hydrocarbons. J. Environ. Qual. V 26, pp: 1478-1483
13. **CHAINEAU C.H., MOREL J.L. et OUDOT J.,2000.** bioremediation a biodegradation. Biodegradation of fuel Oil Hydrocarbons in the rhizosphere of Maize.J.Environ.Qual. V295, 569-578.
14. **CHOCAT B., 2004-**Pollution par les hydrocarbures dans les eaux de ruissellement et traitabilité: Solution existante, 1ere édition Tec et Doc Lavoisier. pp 289-290.

15. **Clément J.M- 1994.** Le technicien d'agriculture tropicale - les cultures maraîchères - Maisonneuve et Larose --Larousse Agricole ACCT - CTA - Librairie Larousse 191- France.
16. **COLIN FRANÇOIS.** (2000). Pollution localisées des sols et sous sols par les hydrocarbures et les solvants chlorés. Rapport N°44, Edition Tec et Doc. Paris. PP 95 - 284, V417.
17. **CRONQUIST A,** 1981-An Integrated system of classification of Flowering plants.Columbia University press, New York.
18. **COSTES J.M.** et **DRUELLE V.,1997.** Les HAP dans l'environnement : la réhabilitation des anciens sites industriels. Revue de l'institut français du pétrole Vol. 52 N°4. 425-439PP.
19. **DELAGE P. et SCHREFLER B., 2005.** Géomécanique environnementale : sols pollués et déchets. Lavoisier. 249 p.
20. **DIAGNE P.N.et TALHI R., 1999-**Pollution des sols agricoles par les hydrocarbures : Essai d'amélioration de la nutrition azotée des cultures sensibles .Mémoire d'ingénieur d'état en Agronomie. INA. EL HARRACH. 52p.
21. **DUCHAUFOR P., 2001.** Introduction à la science du sol : sol, végétation et environnement. 6ème édition MASSON, Paris Milan Barcelone. 498 p
22. **FATTAL P., 2008.** Pollution des cotes par les hydrocarbures. Presse universitaire de Rennes. 498 p.
23. **GIANINA N., 2010.** Impact écotoxicologique des hydrocarbures monoaromatiques dans l'environnement au canada. Essai présenté au Centre Universitaire de Formation en Environnement en vue de l'obtention du grade de maîtrise en environnement
24. **GIDDENS J., 1976.** Spent motor oil effects on soil and crops. J. Environ. Qual., Vol. 5. N° 2. 179-181 pp.
25. **ILLOVIC S. et BONNARME V., 2012.** Ces plantes qui guérissent l'habitat phytoépuration et génie végétale .Ed EYROLLES. Institut Français d'Urbanisme – Université Paris. 130 p
26. **KOLLER E., 2004.** Traitement des pollutions industrielle (eau, air ; déchet, sol, boues). Edition DUNOD. Paris. 424p.
27. **LAURENT C., FEIDT C et LAURENT F., 2005.** Contamination des sols : transferts des sols vers les animaux. EDP Sciences/ADEME. 216 p
28. **LECOMTE P., 1998.** Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines 2<sup>ème</sup> édition Lavoisier TEC & DOC. 204p.

29. **LEMIERE B., JEANNOT R., et CHIRON S., 2001**-Guide méthodologie pour l'analyse des sols pollués. Edition BRGM. 12p.
30. **MIGRAIN I., GREEN G. A. et MONTE IL H., 1993.** Degradation of atrazine in laboratory microcosms: isolation and identification of the biodegrading bacteria. Environmental Toxicological and Chemistry, 1627 p
31. **MOROT J-F., 1997.** Assimilation de l'azote chez les plantes. Edition :INRA, Paris, 1997. Pp75-90.
32. **NEFF., 1979 ., J. M., 1979-** Polycyclique aromatic hydrocarbons in the aquatique environment: source, fat and biological affect. Applied Science, Essex, England, pp : 262.
33. **NJOKU, K., AKINOLA. O. et OBOH, B, O., 2009-** Phytoremediation of crude oil contaminated soil. Edition marslandpress. Pp 80-85.
34. **NORINI M-P., 2007.** Eco dynamique des hydrocarbures aromatiques polycycliques et des communautés microbiennes dans les sols à pollution mixte (HAP, métaux) avant et après traitement par biopile et par désorption thermique. Thèse de Doctorat, université Henri Poincaré, Nancy I. pp 75-90
35. **RAMADE F., 1992.** Précis d'écotoxicologie. Edit. MASSOUN. Paris. 300 p
36. **ROLLIN C et DENIS S. (2005).** Faisabilité de la phytoremédiation des sols de Cokerie Contaminés par les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques. INERIS. Par Technologique ALATA, BP 2, 60 550 VERNEUIL en HALATTE. Edition, SFGP, Paris France. pp 105-110.
37. **ROUQUEROL T, AMIR H et AMIR A, 1987.** Effet de l'épandage de résidu pétrolier de raffinerie sur l'évolution de la matière organique. L'activité de densité microbienne d'un sol agricole, Revue d'écologie et de biologie du sol. 156 p.
38. **SOLTANI M., 2004.** Distribution lipidique et voies de décontamination métabolique chez quatre bactéries Gram négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse de doctorat d'univers Paris. 284 p.
39. **TISSOT B .P., WELTE D. H, (1984),** Petroleum formation and occurrence, Springer, Berlin.9.
40. **VANDECASTEELE, J-P. (2005).** *Microbiologie pétrolière – concepts, implications environnementales, applications industrielles.* Volume 1. Publications de l'institut français du pétrole, Paris, 412p.
41. **VIDALI M., 2001.** Bioremédiation an overview. Pure appel. chem. 222 p.

42. Vogel, 2001 *in* Boudrhem 2011. Utilisation des souches bactériennes telluriques autochtones dans la biodetection et la bioremediation des sols pollues par les hydrocarbures. Mémoire Présenté à la faculté des sciences. Département de science de la nature et de la vie Pour l'obtention de diplôme de MAGISTER. 64 p.

# *Annexes*

# Annexes

**Annexe 1 :** Analyse de la variance de la levée des deux espèces.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
<b>Concentration</b>	9340.4	4	2335.10	34.4891	2.121e-07 ***
<b>Espèces</b>	858.8	1	858.76	12.6838	0.002842 **
<b>conc*sp</b>	714.6	4	178.65	2.6386	0.075371 NS
<b>Erreur</b>	1015.6	15	67.71		

**Annexe 2:** Le test NEWMAN et KEULS pour la hauteur des deux espèces.

Espèce	Moyenne	Groupe
Pois	44.39455	A
Luzerne	36.87786	B

**Annexe 3 :** Analyse de la variance de la hauteur des deux espèces.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
<b>Concentration</b>	3007.0	4	751.7	22.545	3.367e-06 ***
<b>Espèces</b>	7149.5	1	7149.5	214.413	2.727e-10 ***
<b>conc*sp</b>	141.9	4	35.5	1.064	0.4083 NS
<b>Erreur</b>	500.2	15	33.3		

**Annexe 4 :** Le test de NEWMAN et KEULS pour la hauteur des deux espèces.

Espèce	Moyenne	Groupe
Pois	54.68286	A
Luzerne	18.38909	B

**Annexe 5 :** Analyse de la variance du nombre de feuilles des deux espèces.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
<b>Concentration</b>	8648.0	4	2161.99	128.5090	2.056e-11***
<b>Espèces</b>	139.3	1	139.33	8.2821	0.0114993*
<b>conc*sp</b>	835.3	4	208.82	12.4125	0.0001179 ***
<b>Erreur</b>	252.4	15	16.82		

**Annexe 6:** Le test NEWMAN et KEULS pour le nombre de feuilles des deux espèces.

Espèce	Moyenne	Groupe
Pois	35.91455	A
Luzerne	35.37143	B

**Annexe 7:** Analyse de la variance la biomasse aérienne des deux espèces.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
<b>Concentration</b>	3975.7	4	993.93	23.7815	2.401e-06 ***
<b>Espèces</b>	764.1	1	764.05	18.2813	0.0006635 ***
<b>conc*sp</b>	582.8	4	145.71	3.4864	0.0633305 NS
<b>Erreur</b>	626.9	15	41.79		

**Annexe 8:** Le test NEWMAN et KEULS pour la biomasse aérienne des deux espèces.

Espèces	Moyenne	Groupe
luzerne	89.29455	A
pois	80.89643	

**Annexe 9:** Analyse de la variance pour la biomasse racinaire des deux espèces.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
<b>Concentration</b>	17621.3	4	4405.3	10.9520	0.0002337 ***
<b>Espèces</b>	1504.9	1	1504.9	3.7413	0.0721773NS
<b>conc*sp</b>	1504.9	4	174.3	0.4332	0.7825534 NS
<b>Erreur</b>	6033.6	15	402.2		

**Annexe 10:** Analyse de la variance de la longueur des racines des deux espèces.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
<b>Concentration</b>	5183.6	4	1295.89	10.4013	0.0003076***
<b>Espèces</b>	1236.5	1	1236.51	9.9246	0.0066018 **
<b>conc*sp</b>	539.8	4	134.95	1.0831	0.3997450 NS
<b>Erreur</b>	1868.8	15	124.59		

**Annexe 11 :** Le test NEWMAN et KEULS pour de la longueur des racines des deux espèces.

Espèce	Moyenne	Groupe
Pois	36.38091	A
Luzerne	25.55143	B

**Annexe 12 :** Analyse de la variance de volume racinaire des deux espèces.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
Concentration	20065.5	4	5016.4	10.6112	0.0002767***
Espèces	56.1	1	56.1	0.1188	0.7351639NS
conc*sp	201.9	4	50.5	0.1068	0.9783421NS
Erreur	7091.2	15	472.7		

**Annexe 13:** Analyse de la variance le taux de germination.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
Concentration	7599.7	4	1899.92	26.4368	1.858e-09 ***
Espèces	3869.4	2	1934.69	26.9205	2.018e-07 ***
conc*sp	630.2	8	78.77	1.0961	0.393 NS
Erreur	2156.0	30	71.87		

**Annexe 14 :** Le test de NEWMAN et KEULS pour le taux de germination des deux espèces.

Libellés	Moyenne	Groupe
C9	57.00000	A
C7	48.88889	AB
C5	43.44444	B
C3	32.22222	C
C1	19.88889	D

**Annexe 15 :** le test de NEWMAN et KEULS pour Le taux de germination des deux espèces.

Espèces	Moyenne	Groupe
NC	53.33333	A
pois	34.93333	B
luzerne	32.60000	

**Annexe 17 :** Analyse de la variance de la longueur racinaire des deux espèces.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
<b>Concentration</b>	11155.1	4	2788.77	16.7523	2.571e-07 ***
<b>Espèces</b>	2416.9	2	1208.43	7.2591	0.002684 **
<b>conc*sp</b>	501.0	8	62.62	0.3762	0.924919 NS
<b>Erreur</b>	4994.1	30	166.47		

**Annexe 18 :** Le test NEWMAN et KEULS pour la longueur racinaire des trois sols.

	Moyenne	Groupe
NC	35.37667	A
pois	34.36067	
luzerne	19.34733	B

**Annexe 19:** Analyse de la variance du ph du sol des deux espèces et le sol non cultivé.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
<b>Concentration</b>	1.12664	5	0.225327	55.815	5.892e-16 ***
<b>Espèces</b>	0.31650	2	0.158252	39.200	9.157e-10 ***
<b>conc*sp</b>	1.42530	10	0.142530	35.306	1.254e-15 ***
<b>Erreur</b>	0.14533	36	0.004037		

**Annexe 20 :** Le test NEWMAN et KEULS pour le ph du sol des deux espèces et le sol non cultivé

	Moyenne	Groupe
NC	7.724444	A
pois	7.588889	B
luzerne	7.544444	C

**Annexe 21 :** Analyse de la variance de la conductivité des deux espèces.

Source de variation	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Fonction	Probabilité
<b>Concentration</b>	8.2432e-07	5	1.6486e-07	2.1974	0.0760 NS
<b>Espèces</b>	8.7320e-08	2	4.3662e-08	0.5820	0.5640 NS
<b>conc*sp</b>	1.5299e-07	10	1.5299e-08	0.2039	0.9946 NS
<b>Erreur</b>	2.7010e-06	36	7.5027e-08		