

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE 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 Master II en Biologie  
Spécialité : Protection de l'Environnement

## Thème

**Effet du pétrole brut sur la croissance et la nodulation  
de la fève (*Vicia faba* L.), le pois (*Pisum sativum* L.) et  
la luzerne (*Medicago sativa* L.).**

Réalisé par :

M<sup>lle</sup> SLIMANI Myassa.

Devant le jury :

Présidente : M<sup>me</sup> ALKAMA N.

Maître de conférences A à l'U.M.M.T.O

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

Maître assistant A à l'U.M.M.T.O

Examinatrices: M<sup>me</sup> SAHMOUNE F.

Maître assistant A à l'U.M .M.T.O

M<sup>lle</sup> BACHI K.

Doctorante à l'U.M.M.T.O

Promotion : 2014/2015

# *Remerciements*

En premier nous remercions ALLAH de nous avoir donné santé, patience et courage pour mener à terme ce modeste travail ;

C'est autant de plaisir qu'un d'avoir d'exprimer notre gratitude et notre reconnaissance à ma promotrice M<sup>elle</sup> ALI AHMED S., maître assistante de classe B du département de biologie à L'UMMTO d'avoir accepté de m'encadrer et qui m'a orienté et guidée afin de mener à bien ce travail.

Ainsi que :

Madame ALKAMA N., maître de conférence à l'UMMTO, d'avoir accepté de présider le jury :

M<sup>me</sup> SAHMOUN F., maître assistante à l'UMMTO et M<sup>lle</sup> BACHI K., d'avoir amabilité d'examiner ce travail.

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

Enfin, nous adressons un grand merci à ma famille, et toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci.

# *Dédicaces*

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à :

Mes très chers parents ;

Mon très cher frère;

Mes très chères sœurs;

Mon cher neveu.

Mes chers cousins et cousines;

Mes oncles et tantes;

Tous ceux et celles que j'aime et que sont chers ;

Toute la promotion de protection de l'environnement.

*MYASSA.*

## *Liste des abréviations*

**pH** : Potentiel Hydrogène

**ADP** : Adénosine Diphosphate

**ATP**: Adénosine Triphosphate

**NaCl**: Chlorure de Sodium

**CE**: Conductivité Electrique

**FTIR** : Technique d'Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier.

**IR** : infrarouge

**ITMAS** : Institut Technologique Moyen d'Agronomie Spécialisé.

**INRF** : Institut Nationale de la Recherche Forestière.

**THS** : Très hautement significative.

**HS** : Hautement Significative.

**S** : Significative.

**NS** : Non significative.

**HAM** : Hydrocarbures aromatiques monocycliques.

**HAP** : Hydrocarbures aromatiqueq polycycliques.

## *Liste des figures*

<b>Figure 01</b> : Processus influençant le devenir des polluants dans les sols (2012).....	05
<b>Figure 02</b> : Dialogue moléculaire entre la plante et la bactérie lors de la mise en place d'une association symbiotique fixatrice d'azote.....	10
<b>Figure 03</b> : Fève ( <i>Vicia Faba L.</i> ).....	15
<b>Figure 04</b> : Pois ( <i>Pisum Sativa L.</i> ).....	16
<b>Figure 05</b> : Luzerne ( <i>Medicago L.</i> ).....	17
<b>Figure 06</b> : Dispositif expérimental.....	21
<b>Figure 07</b> : Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR.....	25
<b>Figure 08</b> : Taux d'inhibition du taux de levée de la fève, du pois et la luzerne, cultivés dans les différents sols contaminés .....	26
<b>Figure 09</b> : longueur des entre nœuds pour chaque plants dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut.....	28
<b>Figure 10</b> : l'évolution hebdomadaire de la hauteur des plants de la fève, le petit pois et la luzerne.....	29
<b>Figure 11</b> : Taux d'inhibition du nombre des feuilles par plant de la fève, du pois et de la luzerne cultivés sur le sol différemment contaminés par le pétrole brut.....	31
<b>Figure 12</b> : Taux d'inhibition de la biomasse aérienne de la fève, du pois et de la luzerne cultivés dans les sols contaminés par le pétrole brut .....	33
<b>Figure 13</b> : Taux d'inhibition de la biomasse racinaire de la fève, du pois et de la luzerne dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut.....	34
<b>Figure 14</b> : Taux d'inhibition du volume racinaire de trois plantes cultivées dans les différents sols contaminés par le pétrole brut.....	36
<b>Figure 15</b> : Taux d'inhibition du volume racinaire de trois plantes cultivées dans les différents sols contaminés par le pétrole brut.....	37
<b>Figure16</b> : Taux d'inhibition du nombre des nodules des trois espèces cultivées dans des sols différemment contaminés par le pétrole brut .....	39

<b>Figure 17:</b> pH des sols différemment contaminés par le pétrole brut.....	40
<b>Figure 18:</b> Mesure de la conductivité électrique dans le sol témoin et le sol différemment contaminé par le pétrole brut.....	41
<b>Figure 19 :</b> les spectres IR pour les différentes espèces fève, pois et la luzerne cultivées dans le sol témoin et le sol contaminé à 8%. ....	43
<b>Figure 20:</b> Les spectres IR des sols témoins et contaminés à 8% cultivés par les différentes espèces végétales .....	45

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I:</b> Typologie simplifié des principaux agents de contamination des sols .....	04
<b>Tableau II:</b> Classifications simplifiées des bactéries fixatrices d'azote symbiotiques des légumineuses.....	09
<b>Tableau III :</b> les principaux essais de phytoremédiation à l'UMMTO.....	13
<b>Tableau IV:</b> Résultats des analyses chimiques du sol réalisées à l'INRF de Bainem .....	19
<b>Tableau V:</b> Test de Newman et Keuls du taux d'inhibition de la levée de trois espèces pour le facteur concentration.....	27
<b>Tableau VI:</b> Test de Newman et Keuls du taux de levée pour le facteur espèce végétale.....	27
<b>Tableau VII:</b> Groupes homogènes de la longueur des entre nœuds déterminés par le test Newman et Keuls pour le facteur concentration .....	28
<b>Tableau VIII:</b> Groupes homogènes de la longueur entre nœuds déterminés par le test Newman et Keuls pour le facteur espèce .....	29
<b>Tableau IX:</b> Test de Newman et Keuls pour la hauteur des plants pour le facteur espèce végétale.....	31
<b>Tableau X:</b> Test Newman et Keuls du nombre des feuilles pour le facteur concentration .....	32
<b>Tableau XI:</b> Test Newman et Keuls du nombre des feuilles par plant pour le facteur l'espèce végétale .....	32
<b>Tableau XII:</b> Test de Newman et Keuls de la biomasse aérienne pour le facteur concentration.....	34
<b>Tableau XIII:</b> Test de Newman et Kells de la biomasse aérienne pour le facteur espèce végétale. ....	34
<b>Tableau XIV:</b> Groupes homogènes de la biomasse racinaire des trois espèces déterminés par le test Newman et Keuls pour le facteur concentration .....	35

<b>Tableau XV:</b> Test de Newman et Keuls pour le facteur espèce déterminé pour la biomasse racinaire .....	36
<b>Tableau XVI:</b> Test Newman et Keuls de la longueur des racines pour le facteur concentration .....	37
<b>Tableau XVII:</b> Groupes homogènes du taux d'inhibition du volume racinaire des trois espèces déterminé par le test Newman et Keuls pour le facteur concentration .....	38
<b>Tableau XVIII:</b> Test Newman et Keuls pour le facteur espèce pour le taux d'inhibition du volume racinaire des trois espèces .....	38
<b>Tableau IXX :</b> Test Newman et Keuls pour le nombre de nodules des deux espèces, pois et la luzerne pour le facteur de concentration .....	39
<b>Tableau XIX:</b> Test Newman et Keuls pour le nombre des nodules du pois et la luzerne pour le facteur concentration.....	39
<b>Tableau XX:</b> Groupes homogènes du pH des sols différemment contaminés par le pétrole pour facteur concentration déterminés par le test Newman et Keuls.....	41
<b>Tableau XXI:</b> Groupes homogènes de la conductivité électrique déterminés par le test Newman et Keuls pour le facteur concentration .....	42

# Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

## *Chapitre I : Aperçu bibliographique*

I. Généralité sur les hydrocarbures.....	3
I.1. Classification des hydrocarbures.....	3
I.1.1. Les hydrocarbures aliphatiques.....	3
I.1.2. Les hydrocarbures acycliques.....	3
I.1.3. Les hydrocarbures aromatiques.....	3
I.2. Les sources des hydrocarbures.....	4
I.3. Comportement et devenir des hydrocarbures dans le sol.....	4
I.4. Les effets des hydrocarbures sur le sol et les êtres vivants.....	6
I.4.1. effets sur le sol.....	6
I.4.1. Effets sur l'Homme et les animaux.....	6
I.4.2. Effets sur les végétaux.....	6
II. La symbiose Rhizobium-légumineuse.....	7
II.1. Généralité sur les légumineuses.....	7
II.2. La fixation biologique de l'azote atmosphérique.....	8
II.2.1. Les symbioses fixatrices d'azote.....	8
II.2.2. Mise en place de la nodulation chez les légumineuses.....	9
II.3. La formation des nodules.....	11
II.4. Réduction de l'azote atmosphérique.....	11

II.4. Les facteurs influençant la nodulation.....	11
---	----

## *Chapitre II : Matériels et Méthodes*

I. matériels.....	14
I.1. Matériel végétal.....	14
I.2. Le sol.....	18
I.3. Hydrocarbure.....	19
I.4. les pots.....	19
II. Méthode.....	19
II.1. Contamination du sol.....	20
II.2. Dispositif expérimental.....	21
II.3. Mise en place de l'essai.....	22
II.4. Effets phytotoxiques des hydrocarbures sur le végétal.....	22
II.5. Effets des hydrocarbures sur le sol.....	23
II.6. Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformé deFourier (FTIR).....	24
II.7. Méthode d'analyses statistiques.....	25

## *Résultats et discussion*

I. Résultat.....	26
I.1. Effets des hydrocarbures sur le végétal.....	26
I.1.1. Taux de levée.....	26

I.1.2. Longueur entre nœuds.....	27
I.1.3. Hauteur des plants.....	29
I.1.4. Nombre de feuilles par plant.....	31
I.1.5. Biomasse aérienne.....	33
I.1.6. Biomasse racinaire.....	34
I.1.7. Longueur racinaire.....	36
I.1.8. Volume racinaire.....	37
I.1.9. Nombre des nodules.....	38
I.2. Effets des hydrocarbures sur le sol.....	40
II.2.1. Evaluer le pH du sol après culture.....	40
II.2.2. Evaluer la conductivité électrique (CE) du sol après culture.....	41
I.3. Analyse par la spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	42
II. Discussion.....	47
Conclusion générale.....	52

# *Introduction générale*

## **Introduction générale :**

Depuis le siècle dernier et jusqu'à nos jours, l'importance de l'industrie pétrolière n'a cessé de croître et ceci grâce au rôle stratégique et politique que le pétrole joue sur la scène mondiale (Soltani, 2004).

Le secteur des hydrocarbures en Algérie constitue le pivot essentiel de l'économie nationale. Il représente 98% des recettes de toutes les exportations confondues. L'exploitation de gisements du pétrole ne cesse d'augmenter ces dernières années, l'Algérie a produit en moyenne 2,13 millions de barils par jour (Mb/j) de pétrole liquide en 2009, contre 1,42 en 2001 (Anonyme, 2010).

La connaissance des risques environnementaux liés à la production des hydrocarbures est impérative pour faire face aux pollutions engendrées par ces derniers. Parmi les pollutions les plus spectaculaires générées par déversement des fluides pétroliers tels que le pétrole brut, le gasoil, le fuel, l'essence et le kérosène, il y'a la pollution du sol. Certains polluants qui dérivent des activités pétrolières ont tendance à contaminer les sols dans les décharges ou les installations industrielles non contrôlées à l'occasion d'accidents de transport ou par le biais de rejets industriels (Lecomte, 1998).

Cette pollution présente des risques pour les êtres vivants par l'exposition directe avec les polluants ou indirectes via l'eau, l'air, les sédiments et le sol. La prise de conscience de ces risques conduit à la nécessité d'établir des diagnostics de la pollution et de mettre en œuvre des moyens pour y remédier (Norini, 2007).

Des techniques de traitement sont alors destinées à extraire le polluant, à le dégrader ou à l'immobiliser. Elles utilisent des procédés physiques, chimiques ou biologiques (Morel, 2010). Des techniques alternatives basées sur l'utilisation des plantes et des microorganismes associés sont privilégiées, phytoremédiation.

La phytoremédiation des contaminants présents dans le sol est une technologie émergente mettant en jeu les différentes interactions entre la matrice contaminée et l'organisme végétal. Pour les contaminants organiques tels que le pétrole brut, la phytoremédiation semble être l'approche la plus prometteuse, elle a l'avantage de ne pas affecter la qualité intrinsèque des sols (notamment la qualité organique) et son application représente un faible coût (Cardière, 2006).

Au niveau de notre fac, des travaux de recherche qui ont été réalisés ces dernières années, qui ont montré la résistance des plantes aux hydrocarbures à 2% et 5%, mais l'effet de la concentration n'a pas été étudié afin de définir le seuil à partir duquel les plantes ne résistent pas.

L'objectif de ce travail est d'évaluer la capacité de trois espèces à savoir la fève (*Vicia faba* L.), le pois (*Pisum sativum* L.) et la luzerne (*Medicago sativa* L.) de résister aux différentes concentrations du pétrole brut, et définir ensuite le seuil à partir duquel les plantes ne résistent pas, ceci en vue les utiliser en phytoremédiation.

Ce présent travail comprend trois chapitres, le premier consiste en un rappel bibliographique concernant des généralités sur les hydrocarbures ainsi que des généralités sur la symbiose Rhizobium-légumineuses. Le deuxième chapitre présente l'ensemble des matériels utilisés et des méthodes adoptées pour évaluer les effets de différentes concentrations du pétrole brut sur le végétal (taux de levée, hauteur des plants, la longueur des entre nœuds, nombre des feuilles, biomasse végétale, longueur et le volume racinaire et le nombre des nodules), et pour évaluer les effets du pétrole brut sur le sol, nous avons procéder à mesurer le pH et la conductivité électrique de chaque sol, et à la fin nous avons défini les groupements fonctionnels des hydrocarbures après culture par la Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier. Le troisième et le dernier chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus et à leur discussion. Le manuscrit est achevé par une conclusion générale et des perspectives.

# *Aperçu bibliographique*

## I. Généralités sur les hydrocarbures :

Les hydrocarbures sont des composés ubiquistes issus de la transformation diverse et successive de la matière organique (Lutz, 2006).

La principale source des hydrocarbures est le pétrole brut, la seconde source est le charbon. Le gaz naturel que l'on peut rattacher au pétrole brut par leur origine géologique, constitue lui aussi une ressource importante en hydrocarbures (Lefebvre, 1967). Les hydrocarbures présentent une grande importance commerciale. Ils sont utilisés comme carburants, combustibles, huiles lubrifiantes et produits de base en synthèse pétrochimique (Fattal, 2008).

### I.1. Classification des hydrocarbures :

Composés exclusivement d'atomes de carbone et d'hydrogène. Les hydrocarbures sont donc des composés organiques de formule brute ;  $C_nH_m$  où n et m sont des entiers naturels (Chakraborty et Coates, 2004), mais qui renferment aussi en petite quantité des composés soufrés, oxygénés et azotés. Ils peuvent être regroupés en trois familles, les hydrocarbures aliphatiques, acycliques, et des hydrocarbures aromatiques. Plus le nombre d'atomes de carbones est important, plus la masse volumique, le point de fusion et le point d'ébullition seront, d'une manière générale élevée (Bocard, 2006).

**I.1.1. hydrocarbures aliphatiques** : sont constitués de chaines carbonées linéaire qui peuvent être saturées ou posséder une ou plusieurs doubles ou triples liaisons (alcane, alcène, alcyne) (Militon, 2007).

**I.1.2. Les hydrocarbures acycliques** : peuvent être également saturés ou posséder une ou plusieurs doubles liaisons, on parle alors respectivement de cyclane et de cyclène. Cependant, la structure cyclique est incompatible avec les triples liaisons de fait de leur géométrie linéaire, à moins que la molécule ne contienne un minimum de 8 carbones (cyclyne) (Arnaud, 2004).

**I.1.2. Les hydrocarbures aromatiques** : ne comprennent que les hydrocarbures insaturés, elle ressemble tous les composés reformant un ou plusieurs noyaux aromatiques. Les hydrocarbures aromatiques contenant plusieurs noyaux aromatiques accolés (Redolf, 2007).

## II. Les sources des hydrocarbures :

Les hydrocarbures sont des polluants organiques majoritaires des sols, liés à l'utilisation massive de produit pétroliers et à des activités industrielles, souvent anciennes, utilisant des combustibles fossiles ou des produits dérivés (Girard et *al*, 2005). Le tableau suivant (tableau I), résume les principaux agents de contaminations des sols.

**Tableau I :** Typologie simplifié des principaux agents de contamination des sols (Colin, 2000).

Famille de polluants	Principales Propriétés	exemples	Activités généralisées
- Hydrocarbures courants	-Plus légers que l'eau	-Essences -Gasoil -Fuel domestique	-Station services, dépôt de stockage -Installation de transport (oléoducs, fer, route, voies maritimes), raffineries, usines de peinture.
Hydrocarbures lourds	-Densité variable (en générale plus lourds que l'eau) -peu dégradables, peu solubles, peu volatils, visqueux, adsorption en générale forte	Fuel lourds Goudron de pétrole Créosote Certaines huiles de coupe	Chaudières industrielles, centrales thermiques, usines à gaz, raffineries, traitement du bois, usinage de métaux
Hydro-Carbures halogènes aliphatiques	-Denses, -peu biodégradables relativement solubles, volatiles, fluides, adsorption en générale faible	Nombreuses formules dont la plus courante est le chloroforme	Traitement de surface, ateliers de mécaniques, industrie, nettoyage à sec

## III. Comportement et devenir des hydrocarbures dans le sol:

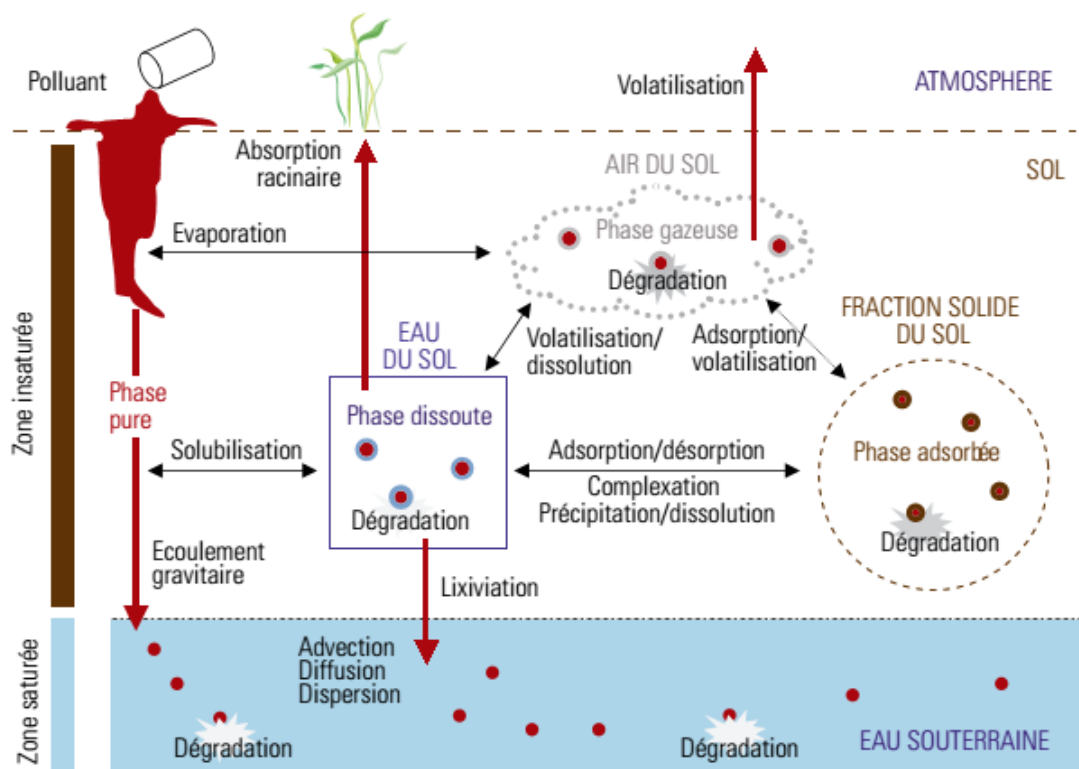
La manifestation du caractère polluant de composés organiques est étroitement liée à leur devenir dans le sol. Bliefert et Perraud, 2004, ont noté que le sol est considéré comme un milieu dynamique (vivant) et complexe, soumis à des influences climatiques différenciées et à des processus chimiques, physiques et biologiques.

Outre la toxicité propre du polluant, qui dépend de sa concentration et de la nature de la cible considérée, sa rétention par le sol et sa persistance sont les deux facteurs

fondamentaux conditionnant le caractère polluant et/ou sa manifestation (Barriuso et Calvet, 2004).

Différents paramètres influencent la biodégradation des hydrocarbures dans les sols contaminés. Il peut s'agir des paramètres inhérents aux microorganismes du sol tels que la nature, la diversité de la flore bactérienne et fongique. La biodégradation des hydrocarbures dans les sols est également influencée par les caractéristiques intrinsèques du sol, telles que le pH, la température, les teneurs en oxygène, en eau et en nutriments (Record, 2007 *in* Bonnard, 2010).

La rétention des polluants organiques par le sol est le résultat des interactions avec les constituants organiques et minéraux des sols (Barriuso et *al*, 1996). Dès leur arrivée dans le sol, les polluants organiques se distribuent dans les trois phases : solide, liquide et gazeuse (figure1). Selon des constantes d'équilibre, d'adsorption, de désorption et de volatilisation, ces constantes sont caractéristiques de chaque produit, mais elles sont modifiées en fonction des conditions pédoclimatiques. La figure suivante, représente les processus influençant le devenir des polluants dans le sol.



**Figure 1** : Processus influençant le devenir des polluants dans les sols (Maes et *al*, 2007).

La connaissance du comportement des polluants a donc une incidence majeure en terme de gestion des risques: vitesse de propagation, extension de la pollution, nombre de récepteurs atteints...

#### **IV. Les effets des hydrocarbures sur le sol et les êtres vivants :**

La présence d'un polluant dans le sol n'est pas en soi, un danger, le risque apparaît dès lors que ce polluant peut être mobilisé et agir sur l'environnement (faune, flore) ou l'Homme (José, 1999).

##### **IV.1. Effets sur le sol :**

Les hydrocarbures, s'ils sont imprégnés dans le sol en quantité limitée (moins de 2% de la couche à 15cm), n'exercent pas d'action dépressive vis-à-vis des microorganismes du sol. Cependant, ils exercent une action nocive indirecte car ils enrichissent le sol en lipides hydrophobe et difficilement biodégradable (Jumbu 1999, in Duchauffour, 2001). Selon Chaîneau et ses collaborateurs (1997), ont noté une diminution de la teneur du sol en phosphore (P) et une augmentation en carbone organique total ainsi que une augmentation du pH du sol.

##### **VI.2. Effets sur l'Homme et les animaux :**

Les hydrocarbures sont des contaminants environnementaux omniprésents. Ils constituent une classe des produits chimiques organiques dangereux dont certains de leurs effets toxiques sont reconnus comme fortement cancérigènes, génotoxiques, immunotoxique, mutagénique ou tératogénique. Selon (Abdely, 2007), les HMA, les HAP et les aldéhydes ont des conséquences néfastes sur la santé. Ils peuvent engendrer des leucémies (Benzène), le cancer du poumon (HAP) ou l'irritation des yeux et des muqueuses respiratoires (Aldéhydes).

##### **VI.3. Effets sur les végétaux :**

En ce qui concerne les végétaux, les impacts sont divers et ils sont en partie dus au taux de pénétration des hydrocarbures dans le sol. Les hydrocarbures s'infiltrent et le polluant peut toucher le système racinaire et limiter les échanges gazeux qui existent entre les racines et le sol. Or, c'est par les racines que les espèces vivaces se régénèrent. Selon (Koller, 2004), les hydrocarbures ont un effet sur la germination et sur la croissance végétative qui a un impact négatif sur le rendement de la matière sèche. D'autres effets tels que l'apparition des chloroses,

des diminutions de l'activité photosynthétique et de stress hydrique ont été rapporté par Reilly et al., 1996 cité par Norini, 2007.

Selon (Duchauffour, 2001, Morel, 2010). Les Légumineuses sont considérées comme plantes ayant un bon potentiel de phytoremédiation.

La symbiose de ces Légumineuses avec des bactéries du genre *Rhizobium* leur confèrent un avantage supplémentaire par rapport à l'autres plantes utilisées en phytoremédiation.

## II. La symbiose *Rhizobium*-légumineuses :

Etymologiquement, le terme symbiose signifie « vivre avec ». Au sens large, une symbiose implique au minimum deux organismes vivants dont l'association stable dans le temps existe sous trois aspects suivant les bénéfices tirés par l'un ou l'autre des partenaires. Le parasitisme profite à l'un des partenaires au détriment de l'autre. Le commensalisme définit une symbiose où l'un des partenaires tire profit de son association à l'autre sans lui nuire. Enfin le mutualisme représente association à bénéfice réciproque (Bélanger, 1998).

(Paul et Lark, 1996 in Norini, 2007), estiment que plus de deux tiers de l'azote atmosphérique dans la biosphère le sont par les bactéries fixatrices d'azote (Rhizobiaceae).

La symbiose *Rhizobium*-légumineuse permet la fixation de l'azote atmosphérique. Les bactéries sont confinées à l'intérieur d'un nouvel organe, le nodule et transforment l'azote en ammoniac. De leur côté, les plantes fournissent beaucoup d'énergie sous forme d'intermédiaires du cycle de Krebs (Bélanger, 1998).

### II.1. Généralités sur les légumineuses :

La famille des légumineuses est l'un des groupes des végétaux supérieurs les plus abondants et les plus diversifiés. Elle est subdivisée en trois sous-familles :

- sous-famille Caesalpinioideae avec une fleur pseudo-papillonacée : Acacia, Inga, Mimosa, et etc.
- sous-famille Mimosoideae avec une fleur régulière : Ceratonia, avec le Caroubier, *Brachystegia*, etc.
- sous-famille Faboideae ou Papilionoideae avec une fleur typique en papillon : fève, luzerne, petit pois, etc.

Les légumineuses comporteraient plus de 19000 espèces réunies en 750 genres et dont seulement 10% ont été examinées pour la nodulation racinaire ou caulinaire. Celle-ci a été observée dans plus de 90% des cas chez les Faboideae et Mimosoideae (Sprent et al., 1987 in

Lezrek, 2008). Sont essentiellement caractérisées par un pistil d'un seul carpelle, le fruit est une gousse. Les feuilles sont de type composés alternées souvent munies des stipules et les fleurs sont généralement irrégulières (zygomorphes) (Dorée, 2000).

Compte tenu de leur aptitude à fixer l'azote atmosphérique, les légumineuses produisent des protéines en abondance (leurs grains contiennent 3 fois plus de protéines que ceux des céréales), sans fertilisation azotée. Elles représentent pour les populations un apport en protéines, une source de revenu (huile, gomme, ...), de fourrage (luzerne, trèfle, ...) et de bois (Acacia, Dalbergia, Pterocarpus, ..). Ainsi, les légumineuses couvrent globalement 66% des besoins de subsistance des communautés rurales dans les pays en voie de développement, tout en assurant un maintien durable de la fertilité des sols et de l'équilibre des écosystèmes.

La sous famille des Papilionoideae regroupe les espèces cultivées les plus importantes économiquement : le pois (*Pisum sativum*,  $2n=2x=14$ ), la luzerne (*Medicago sativa*,  $2n=4x=32$ ), et la fève (*Vicia faba*,  $2n=2x=16$ ) (Lazrek, 2008).

## **II.2. La fixation biologique de l'azote atmosphérique :**

La fixation biologique de l'azote est une étape clef du cycle de l'azote dans les écosystèmes terrestres, qui est une propriété qui conduit à une synthèse de composés organiques qui sont des substances protéiques à partir des composés inorganiques présents dans l'atmosphère.

### **II.2.1. Les symbioses fixatrices d'azote :**

L'optimisation de la fixation symbiotique entre la plante hôte et le rhizobium est souhaitable pour diminuer l'utilisation des fertilisants azotés. Dans certains cas, la symbiose rhizobia-légumineuses n'est cependant pas optimale. Le sol et les conditions climatiques peuvent affecter son fonctionnement.

Les causes principales d'un mauvais fonctionnement symbiotique sont le faible nombre ou le manque d'hôte bactérien approprié dans un sol, ainsi que la présence de rhizobia mauvais fixateurs d'azote. La spécificité d'hôte est l'une de caractéristique majeures de la symbiose rhizobium- légumineuse, chaque espèce bactérienne possède un spectre d'hôte bien défini dont l'amplitude est très variable (tableau 2). La relation rhizobia-légumineuses est une relation spécifique (Girard et *al.*, 2005).

La présence des partenaires bactériens de la symbiose est appréciée lors d'observations des racines au début de floraison de la plante. En revanche, lorsque des nodosités sont observées sur les racines, des informations complémentaires sont nécessaires pour estimer le potentiel symbiotique (Duhoux et Nicole, 2004). Les nodosités, qui sont le siège d'une activité fixatrice d'azote sont généralement rouge ou brunes et de tailles plus importantes que les non fixatrices, plus petites blanches ou verdâtres. Plus les nodosités fixatrices sont nombreuses, plus la symbiose est efficace (Girard et *al.*, 2005).

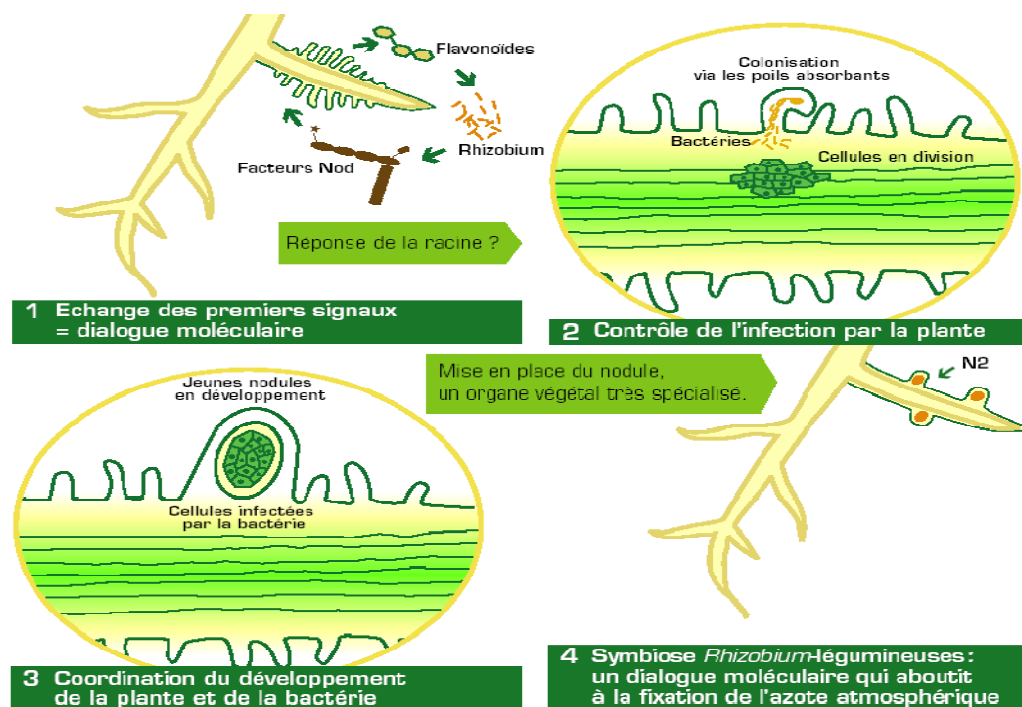
**Tableau II:** Classifications simplifiées des bactéries fixatrices d'azote symbiotiques des légumineuses (Munive, 2002 in Duhoux et Nicole 2004) :

<b>Rhizobium</b>		<b>Principales plantes-hôtes</b>
<b>Genres</b>	<b>Espèces</b>	
Rhizobium	<i>R. léguminosarum</i> <i>Biovar trifolii</i> <i>Biovar viciae</i> <i>Biovar phaseoli</i> <i>R. lupini</i>	Trèfles, Vesce, pois, lentille, etc Haricot lupin
Sinorhizobium	<i>S.melilotii</i> <i>S.fredii</i> <i>S. terangae</i>	Luzerne, Melilot, Trigonelle Soja, Vigna Sesbania et Acacias
Allorhizobium	<i>A. undicola</i>	Nuptunia natans
Mesorhizobium	<i>M. loti</i>	Lotier, Anthyllis, Lupin
Azorhizobium	<i>A.caulinodaus</i>	Tige aérienne de Sesbania rostrata
Bradyrhizobium	<i>B.elkanni</i> <i>B. japonicum</i>	Soja, Vigna, Macroptilium Soja, Vigna, Macroptilium
Blastobacter	<i>B. dentificans</i>	Aeschynomene indica
Methylobacterium	<i>M. nodulans</i>	Crotalaria
Burkholderia	<i>B. sp</i>	Aspalathus
Ralstonia	<i>R.taiwanensis</i>	Mimosa

### II.2.2. Mise en place de la nodulation chez les légumineuses :

La formation de nodules est le résultat d'un dialogue moléculaire entre le microsymbionte et la plante hôte (Foucher et Kondorosi 2000; Limpens et Bisseling 2003 *in* Lazrek, 2008) (figure 2), qui sont des bactéries Gram négatif de la classe des  $\alpha$  et  $\beta$  protéobactéries capables d'établir des associations symbiotiques avec la plante de la famille des légumineuses. De nombreux signaux moléculaires spécifiques sont échangés entre la plante-hôte et les bactéries tout en long de la formation de la nodosité. Deux mécanismes contrôlés par la plante se mettent en place conjointement ; l'infection par les rhizobia et la formation d'un nouvel organe, les nodules; situés le plus souvent sur le système racinaire et peuvent être parfois caulinaires, dans lesquelles les bactéries se multiplient et réduisent l'azote de l'air (Revellin, 2012). La plante hôte fournit une niche protectrice et de l'énergie aux bactéries qui, en échange cèdent l'azote fixé à la plante.

Le nombre (ou le poids) des nodules actifs sur le système racinaire est contrôlé par la plante-hôte (phénomène d'autorégulation). Selon le type d'association, la symbiose est plus ou moins efficace (efficiente). Cette effectivité est indépendante du nombre ou la taille des nodules et se traduit par une coloration plus ou moins rouge (leghémoglobine) du tissu central infecté du nodule (duhoux et nicole, 2004).



**Figure 2:** Dialogue moléculaire entre la plante et la bactérie lors de la mise en place d'une association symbiotique fixatrice d'azote (Lezrek, 2008).

### II.3. La formation des nodules :

La nodulation est un phénomène complexe, qui se réalise sous le contrôle de la plante-hôte. Le nodule est un nouvel organe produit par la plante hôte, la formation d'un nodule fonctionnel peut être divisée en 3 étapes : l'infection bactérienne, l'organogénèse nodulaire et la fixation de l'azote.

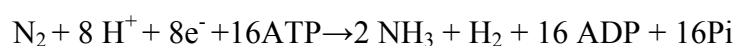
Les rhizobia pénètrent la cellule végétale par la formation d'un cordon d'infection qui traverse d'abord le poil absorbant et se ramifie ensuite dans les cellules corticales guidant ainsi les bactéries vers les couches cellulaires intérieures (Gage 2004). Simultanément à l'infection des poils absorbants, certaines cellules du cortex interne se différencient et se divisent à plusieurs reprises, formant un primordium nodulaire. Quand les cordons d'infection atteignent le primordium, certaines cellules arrêtent de se diviser et entrent dans des cycles répétés d'endoréplication (Brewin, 1999 *in* Mbengue, 2010), elles sont alors envahies par des rhizobia qui sont relâchés des cordons d'infection (Cermola *et al.* 2000; Brewin 2004 *in* lezrek, 2008). Ensuite, la pénétration de la bactérie est faite par endocytose.

Finalement, les cellules végétales infectées et les bactéries infectantes se différencient en cellules capables de fixer et d'assimiler l'azote. La structure nouvellement formée, qui se compose des bactéries qui différencient dans des bactéroïdes enfermés dans une membrane de cellules de la plante, s'appelle un symbiosome (Brewin, 1999 *in* Mbengue, 2010).

### II.4. Réduction de l'azote atmosphérique:

L'azote atmosphérique est réduit par la nitrogénase des bactéroïdes et est exporté vers le cytosol de la cellule hôte sous forme d'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) ou d'acide aminés par le biais de systèmes navettes (Karaboneye, 2013). Lors de ce processus, la plante produit de la leghémoglobine autour des symbiosome. Une pression partielle basse en oxygène est nécessaire au bon fonctionnement de la nitrogénase, tout en assurant un approvisionnement suffisant en oxygène pour la respiration des bactéroïdes (Ott *et al.* , 2005 *in* Lezrek, 2008).

La fixation d'azote est bénéfique à la plante hôte, car elle fournit l'azote dont la plante a besoin pour sa croissance et son développement (Kiers *et coll.*, 2003 *in* Karaboneye, 2013). De leur côté, les bactéroïdes reçoivent le carbone sous forme de malate de la plante comme source d'énergie (Hardarson *et Atkins*, 2003 *in* Karaboneye, 2013). L'équation montre la stoechiométrie pour la réduction de l'azote atmosphérique en ammoniac (Bélanger, 1998).



**II.5. Les facteurs influençant la nodulation :**

De très nombreux facteurs interviennent dans la fixation biologique de l'azote et modulent l'efficacité des nodules (stades de développement des plantes, génotypes de la plante et facteurs de l'environnement), l'apport de l'azote combiné constitue l'un des facteurs limitant les mieux connus et les plus importants au plan agronomique (Duhoux et Nicole, 2004).

Si la présence très importante d'azote dans le milieu réduit le fonctionnement de la symbiose, il en est de même pour d'autres facteurs parmi lesquels on peut citer la salinité du milieu, l'acidité, la pauvreté en phosphore, la sécheresse, les basses températures, la limitation en nutriments ou le manque d'oxygène. Une carence en molybdène est aussi néfaste car cet élément s'avère indispensable dans les processus de fixation de l'azote (Anonyme, 2008).

Le Stress salin affecte à la fois les populations rhizobiennes, les légumineuses hôtes et la relation symbiotique, la formation des nodosités est extrêmement sensible à la présence de Chlorure de Sodium (NaCl) par réduction des sites d'infection de la racine et du nombre de poils absorbants (Anonyme, 2008), ainsi elle réduit la survivance et la multiplication du Rhizobia dans le sol et la rhizosphère (Alexander, 1984 *in* Anonyme 1994).

L'influence de pH sur la nodosité et l'activité des rhizobia; un pH alcalin ou acide affecte la croissance et la multiplication des Rhizobium et provoque ainsi une baisse du nombre des nodosités (Anonyme, 1994).

Les contraintes hydriques : peuvent affecter la symbiose rhizobium-légumineuses, en diminuant la croissance et la survie des rhizobia dans le sol, en réduisant la colonisation de la rhizosphère ou en inhibant totalement ou partiellement le processus d'infection et de développement des nodosités (Obaton *et al.*, 1994, *in* Anonyme, 2000).

La déficience en phosphore affecte la multiplication des Rhizobium dans la rhizosphère ayant pour conséquence une réduction de la probabilité d'infection (Ribel, 1995 *in* Anonyme, 2000), diminue la croissance des nodosités, inhibe l'activité des plantes (Rao et Terry, 1989 *in* Anonyme, 2000), ainsi que le transport, l'utilisation des assimilats (Qui et Israil, 1992, Rychter et Randall, 1994 *in* Anonyme, 2000).

Beaucoup de travaux ont porté sur l'étude de phytotoxicité du pétrole brut sur les légumineuses, mais très peu de travaux ont traité les effets de pétrole brut aux différentes concentrations sur les plantes ainsi que sur la nodosité des légumineuses afin d'évaluer leur résistance à cette pollution ceci en vue de les utiliser en phytoremédiation.

**Tableau III** : les principaux essais de phytoremédiation à l'UMMTO dont concentration du pétrole brut à 2% et 5%.

Espèces	Sol	Résultats	Auteurs
L'Orge ( <i>Horodeum vulgare</i> L.) La Luzerne, ( <i>Medicago sativa</i> L.)	Sol de la ferme centrale de l'INA contaminé par les hydrocarbures à différents concentrations (2% et 5%).	L'essai de phytoremédiation est confirmé par la capacité de la luzerne à dépolluer le sol, par contre l'orge est toxique en vers le pétrole.	Aliahmed et Belkaid. 2006.
Le Pois, ( <i>Pisum Satinum</i> L.) Pois chiche, ( <i>Cicer Arietinum</i> L.)	Sol de l'ITMA contaminé à deux niveaux de concentration (2% et 5%).	L'essai de phytoremédiation est efficace pour le pois par contre le pois chiche n'est pas efficace car il présente une toxicité vis-à-vis de pétrole.	Benamara et Mohammadi. 2010.
Luzerne ( <i>Medicago sativa</i> L.), le pois ( <i>Pisum sativum</i> L.), fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	Sol issu de l'ITMAS contaminé à 2% et 5 % par le pétrole brut.	les différentes concentrations ont un effet toxique sur les espèces végétales.	Zerrouki et Ouهدda. 2013.
Fève ( <i>Vicia Faba</i> L.)	Sol provient de l'ITMAS contaminé par le pétrole brut à différentes concentrations (de 0% à 8%)	L'essai de la phytoremédiation est confirmé par la capacité de la fève à résister à certaines concentrations du pétrole brut.	Takilt et Taouachi. 2013.

# *Matériel et méthodes*

Dans le but d'évaluer la résistance de trois espèces à savoir la fève (*Vicia faba* L.), le pois (*Pisum sativa* L.) et la luzerne (*Medicago sativa* L.) à différentes concentrations du pétrole brut ceci en vue les utiliser en phytoremédiation, notamment évaluer l'effet du pétrole brut sur les nodosités ainsi que sur le sol, un essai a été mené au niveau des laboratoires du département de Biologie à l'UMMTO.

L'étude consiste à cultiver des graines de la fève, le pois et la luzerne dans des pots qui contiennent un sol agricole non contaminé et un sol contaminé par le pétrole brut.

Pour cela, le choix des méthodes d'études est établi en fonction des objectifs du travail qui consiste à mesurer les différents paramètres suivant: le taux de levée, la longueur des entrenœuds, la hauteur des plants, le nombre des feuilles, la biomasse végétale, la longueur et le volume des racines, et le nombre des nodules ainsi l'évaluation du pH et la conductivité électrique (CE) du sol. Enfin l'évaluation de la composition chimique du sol et du végétal par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).

## **I. Matériels :**

### **I.1. Matériel végétal :**

Trois espèces végétales différentes ont été utilisées à savoir la fève, le pois et la luzerne qui appartiennent à la famille des Légumineuses.

D'après les travaux de recherches précédents (Zerrouk et Ouhadda, 2013), (Belkacem et Rouas, 2012), ces espèces présentent une capacité de résistance et supportent la contamination par les hydrocarbures notamment le pétrole brut mais aussi les autres stress présents comme la sécheresse ou le manque des nutriments. Ces espèces ont été choisies pour l'expérience à cause de leur système racinaire ramifié offrant une grande surface de la racine à la croissance des populations microbiennes.

#### **I.1.1. La fève :**

**1.1.1.1. Classification botanique :** La fève est une plante annuelle, diploïde, de la famille des Fabaceae, tribu des Fabaea dont la culture est pratiquée dans tous les pays tempérés, notamment dans les régions méditerranéenne.



Figure 03: la fève (*Vicia faba* L.), (Belkacem, 2012)

Selon Cronquist (1981), la fève est classée comme suit :

Règne:	Plantae.
Sous-règne:	Tracheobionta.
Division:	Magnoliophyta.
Classe:	Magnoliopsida.
Sous-classe:	Rosidae.
Ordre:	Fabales.
Famille:	Fabaceae.
Sous-famille:	Faboideae.
Genre:	<i>Vicia</i> .
Espèce:	<i>Vicia faba</i> L.

#### 1.1.1.2. Caractéristiques morphologiques :

La fève se développe à partir d'une tige simple, dressée, creuse et de section quadrangulaire. Sa hauteur est généralement comprise entre 0,80 à 1,20 m bien que certaines variétés naines aujourd'hui abandonnées, ne dépassent pas 40 cm (Chaux, 1994).

La plante forme des feuilles alternes et composées-pennées. Le système racinaire est à dominance pivotante, il peut s'enfoncer jusqu'à 80 cm. Les nodosités sont abondantes dans les 30 premiers centimètres (Chaux, 2003).

### 1.1.1.3. Exigences climatiques et édaphiques :

Selon Chaux (1994), la fève supporte les faibles gelées ne dépassant pas  $-3^{\circ}\text{C}$ . Les fortes chaleurs (au-dessus de  $22-25^{\circ}\text{C}$  de moyenne journalière) lui sont néfastes (arrêt de croissance, chlorose) et peuvent même anéantir complètement la végétation. Les besoins en eau sont élevés. Ils sont généralement satisfaits dans la première phase de la culture par les réserves en eau du sol et la pluviométrie. La fève ne présente pas d'exigences spécifiques sur le plan édaphique. On revanchera un pH neutre à légèrement alcalin.

### 1.1.2. Le pois potager (petit pois) :

Le pois est une espèce annuelle de la famille des Fabacées. Le terme désigne aussi la graine elle-même, riche en énergie (amidon) et en protéine (Clément, 1994), cultivée pour ses graines, vendues sous le nom de petit pois.



Figure 04 : le Petit pois (*Pisum sativum* L.) (Zerrouk et Ouهدda, 2013).

1.1.2.1 Selon Cronquist (1981), la position systématique du pois est comme suit:

Règne :	Plantae.
Sous-règne :	Tracheobionta
Division :	magnoliophyta
Classe :	magnoliopsida
Sous-classe :	Risodae.
Ordre :	fabales.
Familles:	Fabacées.

Sous famille:	faboideae.
Genre:	<i>Pisum</i> .
Espèce:	<i>Pisum sativum</i> L.

### 1.1.2.2. Caractéristiques morphologiques :

Sa hauteur est comprise entre 0,40 à 0.60 m pour les variétés naines et demi-naines, jusqu'à 1.50 m pour les variétés rames, très productives.

D'après (Kolev, 1976), le pois forme une tige herbacée angulaire ou cylindrique avec peu ou pas de ramifications, il forme une racine principale pivotante développée et des racines secondaires latérales. Des nodules globulaires peuvent se développer sur la racine principale des jeunes plants, les gousses sont de 5 à 10 cm de longueur, peuvent contenir jusqu'à une dizaine de graines globulaires ou angulaires, lisses généralement (Clément, 1994).

### 1.1.2.3. Exigences climatiques et édaphiques :

Faisant partie des légumineuses maraichères d'origine méditerranéenne ou tempérée, le pois se développe bien en hiver sur les hauts-plateaux malgaches où on peut le cultiver toute l'année, diverses variétés résistent au grand froid (de -1 à 2°C). Le meilleur pourcentage de germination est en général obtenu à une température de + 18° C (Kolev, 1979). En périodes sèches, il est nécessaire de prévoir des irrigations, mais les pois craignent les excès d'humidité (Kolev, 1979). Le pois potager demande de l'air et de la lumière. Il 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 (Clément, 1994).

**1.1.3. La luzerne :** La luzerne est une légumineuse fourragère. Cette figure illustre la luzerne (*Medicago sativa* L.)



**Figure 5 :** La luzerne (*Medicago sativa* L.) (Zerrouk et Ouهدda, 2013).

**1.1.3.1. Classification botanique :**

Selon Cronquist (1981), la classification botanique de la luzerne est comme suit :

Règne :	plantae.
Sous-règne:	Magnoliophyta.
Classe:	Magnoliopsida.
Sous-classe:	Rosidae.
Ordre:	fabales.
Famille:	Fabacées.
Sous famille:	Faboideae.
Tribu:	Trifolieae.
Genre:	<i>Medicag.</i>
Espèce:	<i>Medicago sativa</i> L.

**1.1.3.2. Caractéristiques morphologiques :**

C'est une plante vivace de 50 à 80 cm de haut à tiges dressées ascendantes et très ramifiées. Les feuilles sont trifoliées pétiolées et dentées (Mathieu, 1994). La racine pivotante, en sol sain et profond et bien drainé, descend habituellement à plus de 10 m de profondeur (Mathieu, 1994). 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 (Mathieu, 2004).

**1.1.3.3. 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 (Mathieu, 1994). Les besoins de la luzerne en eau varient entre 800 et 1600 m<sup>3</sup>/ha, elle peut s'adapter à de nombreux types de sol mais elle tolère mal les sols acides (pH inférieur à 5), ou très humide (Mathieu, 1994).

**1.2. Le sol :**

L'étude expérimentale a été réalisée sur un échantillon de sol qui provient de l'ITMAS de Boukhalfa. Le prélèvement correspond à la couche superficielle du sol (0-25cm).

Les caractéristiques essentielles de l'échantillon du sol sont les suivantes.

**1.2.1. Caractéristiques physiques**

Les analyses effectuées au laboratoire de pédologie de l'Institut Nationale de Recherche Forestière de Baïnem sur notre parcelle, indiquent que le sol est de texture argilo-

limoneuse ce qui signifie un sol lourd qui a une forte capacité de rétention en eau et en éléments minéraux (Ghemdane, 2013 *in* Amiri, 2013).

### 1.2.2. Caractéristiques chimiques

Les résultats de l'étude du sol sont représentés dans le tableau :

**Tableau IV:** Résultats des analyses chimiques du sol réalisées à l'INRF de Bâinem :

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

### 1.3. L'hydrocarbure :

L'hydrocarbure utilisé pour la contamination du sol, est un pétrole brut provenant d'une unité d'exploitation de HASSI MESSAOUD.

### 1.4. Les pots :

Les pots utilisés pour la culture des trois espèces sont des pots de 5 cm de diamètre et de 10 cm de hauteur, dans lesquels nous avons mis 100 g du sol. Nous avons utilisé 45 pots.

## II. Méthodes :

L'étude consiste en une évaluation de l'effet écotoxicologique de différentes concentrations des hydrocarbures, notamment le pétrole brut sur des plantes à savoir la fève, du pois et de la luzerne afin d'évaluer leur résistance à cette pollution ceci en vue les utiliser en phytoremédiation, ainsi évaluer que l'effet du pétrole sur le sol.

Nous nous sommes intéressés aux indicateurs de croissance suivants : taux de levée, la hauteur des plantes, la longueur des entre nœuds, le nombre de feuilles, la biomasse végétale,

le volume et la longueur racinaire ainsi que le nombre de nodules par plante. D'après (Mazliak, 1982), ces paramètres désignent les changements quantitatifs et qualitatifs de la plante produisent au cours du temps, ainsi ces paramètres sont le siège de toute transformation apparaît sur le végétal.

Nous nous sommes intéressés également à l'évaluation des effets des hydrocarbures sur quelques propriétés du sol après culture tels que le pH et la conductivité électrique (CE).

A la fin de la culture, nous avons procédé à l'analyse du sol et les plantes par la spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), pour voir si il ya eu modification des groupements fonctionnels.

### **II.1. Contamination du sol :**

Après échantillonnage sur le terrain, le sol a été tamisé à 4 mm pour l'homogénéiser. Il est ensuite divisé en 5 lots, chacun avec 3 répétitions. Le premier lot a été contaminé par le pétrole à 2%, le deuxième a été contaminé à 4% et le troisième a été contaminé à 6%, le quatrième a été contaminé à 8%, et le cinquième lot n'a pas été contaminé et sert de témoin

### **II.2. Le dispositif expérimental :**

Notre dispositif expérimental est un dispositif complètement aléatoire (figure 6) :

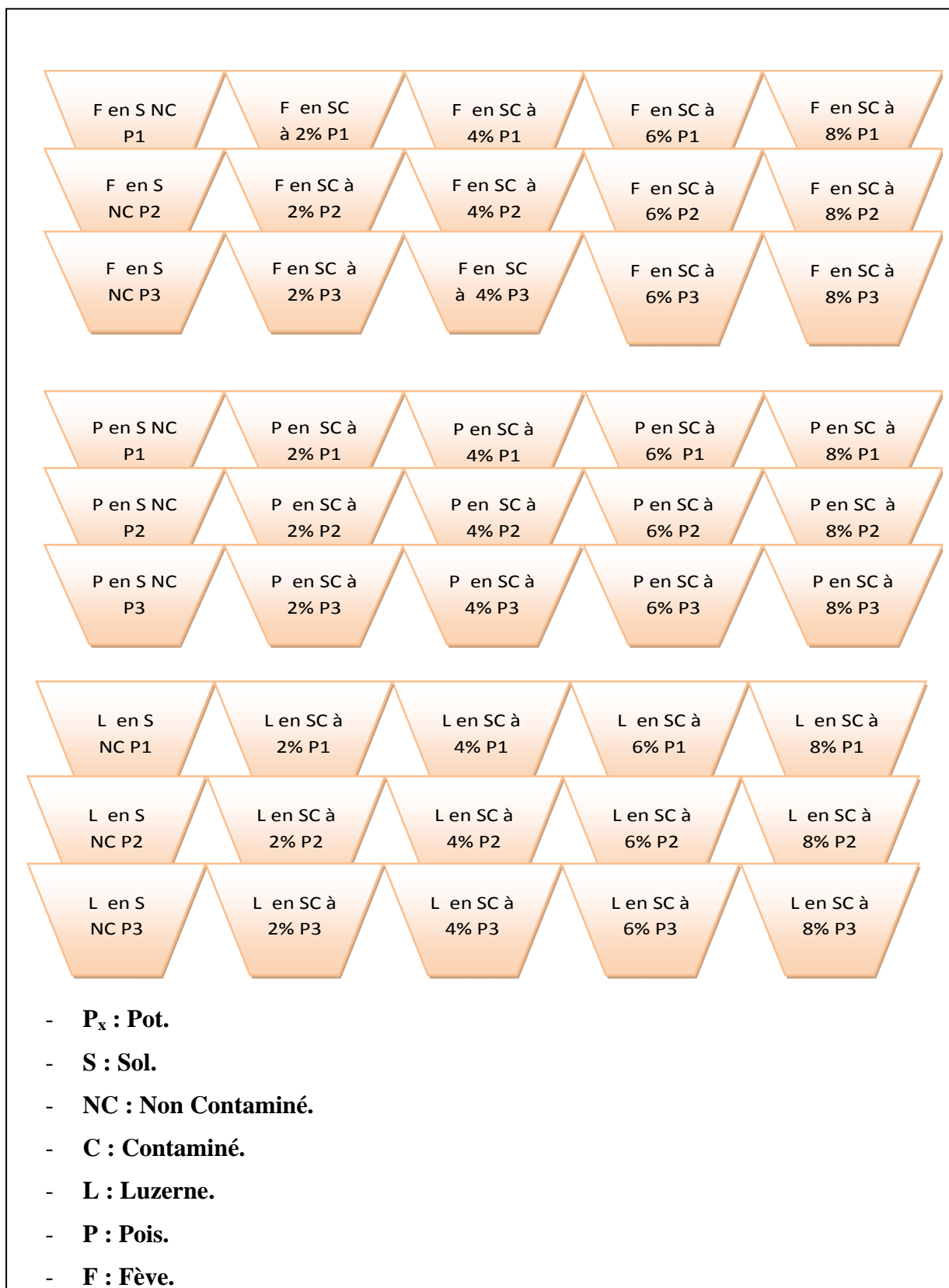


Figure 06 : Dispositif expérimental de trois plantes.

**II.3. Mise en place de l'essai :**

Le semis a été réalisé le 26/11/2014. Chaque pot contient 100 g de sol a reçu 3 graines de la fève, 5 graines du pois et 10 graines de luzerne à une profondeur de 2 cm. Un arrosage juste après le semis a été réalisé pour évacuer l'air compris entre les particules du sol et permettre une bonne germination des graines.

La récolte a eu lieu le 11/02/2015, elle a été réalisée manuellement au stade floraison des plants. La partie aérienne a été séparée de la partie racinaire. Les racines des plantes ont été nettoyées et rincées à l'eau de robinet.

**II.4. Effets phototoxiques des hydrocarbures sur les plantes :**

Afin d'évaluer la résistance de trois espèces à différentes concentrations du pétrole brut, nous avons procédé à la mesure des paramètres suivants :

**II.4.1. Taux de levée :** Il consiste à établir un pourcentage de levée dans chaque lot.

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

**II.4.2. Entre nœuds :**

Il consiste à mesurer la longueur entre nœud de chaque plant.

**II.4.3. Hauteur des plants :**

Elle consiste à mesurer en centimètres (cm) à l'aide d'une règle graduée, la croissance en longueur des plants. La mesure est hebdomadaire.

**II.4.4. Le nombre des feuilles par plant:**

L'estimation du nombre de feuilles est un bon indicateur des capacités assimilatrices de la plante et sa production en biomasse (fischeur et dupuitate, 1996 *in* Ould rabah, 2012).

Après dix semaines de culture, nous avons procédé au calcul du nombre des feuilles pour chaque plant de chaque plante.

**II.4.5. La biomasse aérienne :**

La biomasse végétale étant un critère de mesure de rendement au niveau d'un sol contaminé par les hydrocarbures. Selon (koller, 2004), les hydrocarbures ont un effet sur la

germination et sur la croissance végétative qui a un impact négatif sur le rendement de la matière sèche. Il s'agit de prendre le poids de la partie aérienne des plantes de chaque lot à l'état sec. La partie aérienne étant séparée de la partie racinaire et séchée à l'air libre pendant deux semaines.

#### **II.4.6. Biomasse racinaire :**

Elle se mesure en pesant la partie racinaire des plantes, de chaque sol, à l'état sec. La partie racinaire étant séparée de la partie aérienne et séchées à l'air libre pendant deux semaines.

#### **II.4.7. Longueur des racines :**

Après la séparation de la partie aérienne de la partie racinaire et après un rinçage à l'eau, nous avons procédé à la mesure de la longueur en (cm) des racines principales des plants de chaque pot à l'aide d'une règle graduée.

#### **II.4.8. Volume racinaire (cm<sup>3</sup>) :**

La partie racinaire a été mise dans des tubes gradués contenant un volume d'eau. Le volume de la partie racinaire est donné par la formule suivante :

$$V = V_1 - V_0$$

**V** : volume racinaire

**V<sub>0</sub>** : volume de l'eau dans le tube gradué avant la mise des racines

**V<sub>1</sub>** : le volume de l'eau après avoir mis les racines

#### **II.4.9. Nombre de nodules par plant:**

Le nombre de nodules consiste en le comptage des nodules de chaque plant de trois espèces après rinçage à l'eau.

#### **II.5. Effets des hydrocarbures sur le sol :**

Pour évaluer l'effet des hydrocarbures sur le sol, on a procédé à mesurer le pH et la conductivité électrique (CE) de chaque sol. La mesure du pH et la conductivité électrique (CE) constitue les tests les plus sensibles des modifications survenant dans l'évolution d'un sol (Mathieu et Pieltain, 2003).

**II.5.1. Le pH (Référence inolabe):**

Après un tamisage à l'aide d'un tamis de 2 mm de diamètre, le sol sec a été mélangé avec de l'eau distillée bouillie et refroidie au rapport 2/5 (masse/volume) puis agité avec un agitateur magnétique pendant 5 mn et laissé décanter pendant 2 h. Le pH est ensuite mesuré à l'aide d'un pH-mètre HI2210. Il est important de noter que les changements de pH peuvent influencer la dissolution ou la précipitation de certains composés dans le sol. Il faut vérifier que l'augmentation ou la diminution du pH ne mobilise pas des composés dangereux (Clément et Pieltain, 2003).

**II.5.2. La conductivité électrique (référence IF 42):**

La conductivité électrique permet d'exprimer la salinité totale d'une solution, ou bien elle traduit la concentration en électrolyte d'une solution. Le seuil acceptable pour les plantes varie entre 2 à 15 mmhos/cm. (Boulaine, 1978 *in* Derkaoui, 2011).

Le sol est mélangé avec de l'eau distillée au rapport 1/5 (masse/volume) puis agité avec un agitateur magnétique pendant 5 mn et laissé décanter pendant 15 à 20 mn. La CE est ensuite mesurée à l'aide d'un conductimètre.

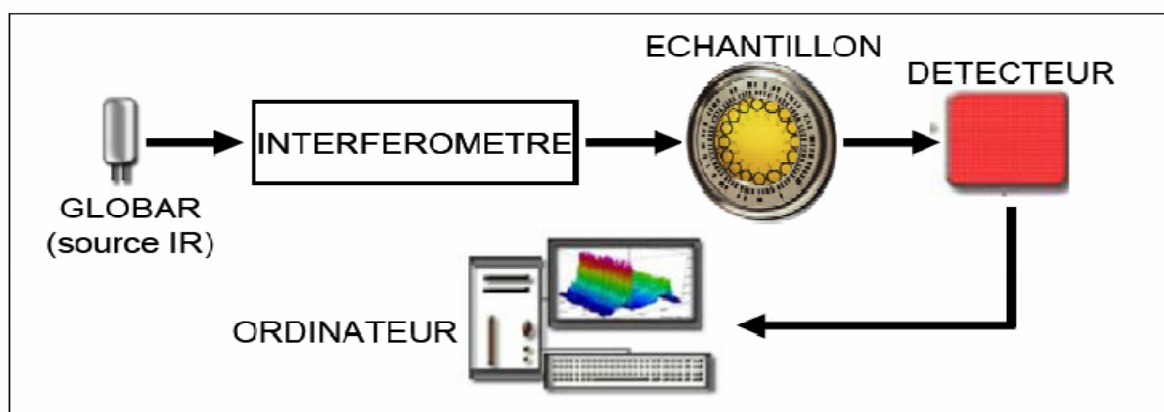
**II.6. Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) :**

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) 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 (Oussama, 2008).

Une molécule illuminée par des radiations dans l'infrarouge peut absorber certaines d'entre elles à des longueurs d'onde qui correspondent aux fréquences de vibration des groupements chimiques la constituant (Oussama, 2008). La spectroscopie infrarouge produit un rayonnement dont la fréquence (nombre d'onde) varie de 500 à 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Elle permet d'évaluer les modifications des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures des sols contaminés ainsi que les plantes.

Les échantillons du sol et des plantes 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.

La figure 04, représente le principe d'un spectromètre Infrarouge à Transformé de fourier :



**Figure 07 : Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR (Oussama, 2008).**

### II.7. Méthodes statistiques :

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 :

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

Le traitement des résultats obtenus a été réalisé avec le logiciel R.3.0.2. Ces résultats sont soumis à une analyse de la variance à un critère de classification qu'est la concentration du contaminant et l'espèce végétale. Le test de Newman et keuls permet la comparaison des moyennes puis la détermination des groupes homogènes, dans les cas où les différences entre les moyennes s'avèrent significatives.

# *Résultats et discussion*

## I. Résultats :

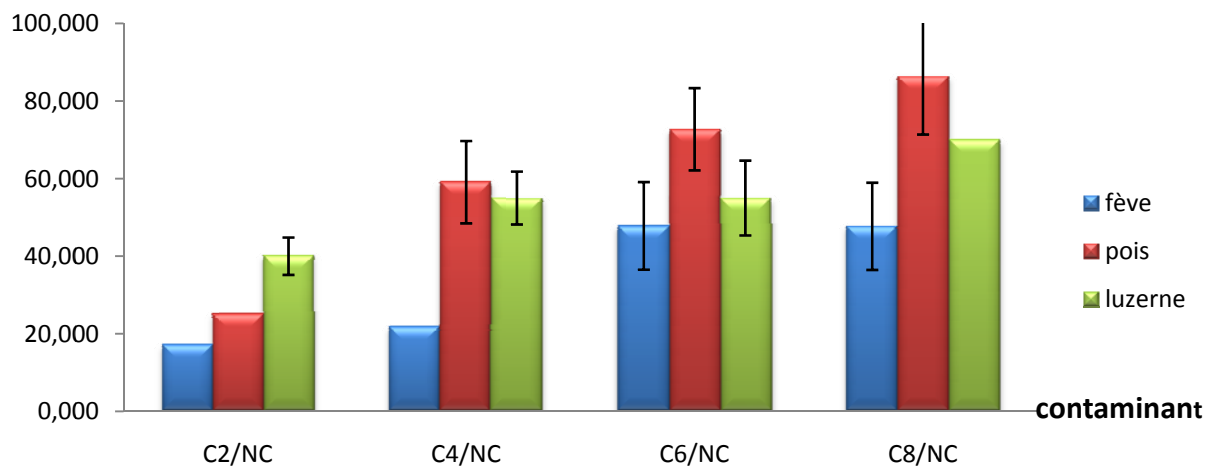
### I.1. Effet des hydrocarbures sur le végétal :

Les trois espèces que nous avons semées à savoir la fève, le pois et la luzerne ont été affectées par la présence du pétrole brut dans le sol. Afin d'évaluer l'effet de différentes concentrations du pétrole brut sur le végétal, différentes mesures ont été faites au cours de leur croissance.

#### I.1.1. Taux de levée :

Les résultats de l'analyse des taux des différents plants, sont présentés dans la figure 8 :

##### taux d'inhibition de la levée (%)



**Figure 8:** Taux d'inhibition du taux de levée de la fève, du pois et la luzerne, cultivés dans les différents sols contaminés.

Le taux d'inhibition de la levée de la fève a atteint une moyenne de 47,82% dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut. Concernant la levée du pois, nous avons constaté une augmentation du taux d'inhibition la levée avec l'augmentation de la concentration du pétrole brut a atteint une valeur de 86,36%. Un taux d'inhibition a atteint une valeur moyenne de 70% dans les sols contaminés cultivés avec la luzerne.

L'analyse de la variance du taux d'inhibition de la levée (Annexe I-1) a révélé une différence significative pour le facteur concentration ainsi que une différence hautement significative pour le facteur espèce.

Le test Newman et Keuls a fait sortir trois groupes homogènes, le groupe A contient la concentration à 8%, 6%, le groupe AB contient la concentration à 4%, et le groupe B qui contient la concentration à 2%.

**Tableau V** : Test de Newman et Keuls du taux d'inhibition de la levée de trois espèces pour le facteur concentration :

<b>Libelles</b>	<b>Moyennes</b>	<b>Groupes</b>
NC/C8	66.57677	A
NC/C6	59.75014	A
NC/C4	50.81019	AB
NC/C2	34.59934	B

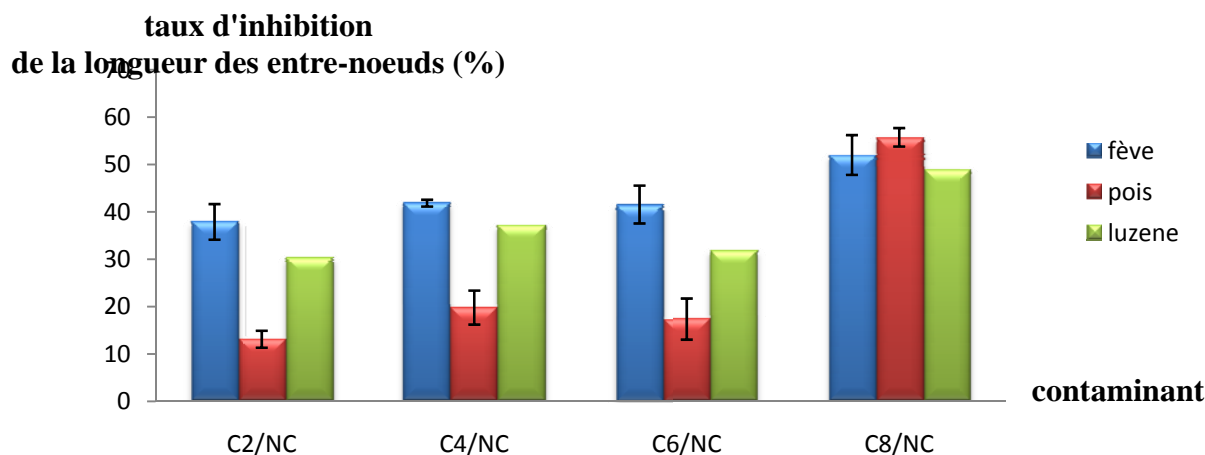
Le test de Newman et Keuls a fait sortir deux groupes homogènes, à savoir le groupe A qui contient le pois et la luzerne, et B qui contient la fève, ce qui signifie la résistance de la fève par rapport à la luzerne et le pois.

**Tableau VI**: Test de Newman et Keuls du taux de levée pour le facteur espèce végétale :

<b>Espèces</b>	<b>Moyennes</b>	<b>Groupes</b>
pois	66.25000	A
luzerne	59.09091	A
fève	38.28470	B

### **I.1.2. longueur des entre nœuds :**

Les résultats des analyses du taux d'inhibition de la longueur des entre nœuds sont représentés dans la figure 09 :



**Figure 9:** le taux d'inhibition de la longueur des entre-nœuds pour chaque plant dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut.

Nous avons enregistré un taux d'inhibition de la longueur des entre-nœuds aller jusqu'à 52,02% dans les différents sols contaminés cultivés avec la fève. Concernant les plants du pois, une valeur de moyenne de taux d'inhibition est de 55,76% dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut. Une valeur de moyenne de 49% de l'inhibition des entre nœuds dans les sols contaminés cultivés par la luzerne.

L'analyse de la variance (annexe I-2) a dévoilé des différences hautement significatives pour les deux facteurs concentration et l'espèce végétale ce qui confirme l'effet toxique des hydrocarbures vis-à-vis des trois espèces.

Le test de Newman et Keuls a fait sortir deux groupes homogènes pour le facteur concentration à savoir le groupe A qui contient sol contaminé à 8%, et les sols contaminés à 2%, 4% et 6% sont classés dans le groupe B.

**Tableau VII:** Groupes homogènes de la longueur des entre nœuds déterminés par le test Newman et Keuls pour le facteur concentration.

Libelles	Moyennes	Groupes
CN/C8	52.76627	A
NC/C4	34.58593	B
NC/C6	30.20410	B
NC/C2	28.64591	B

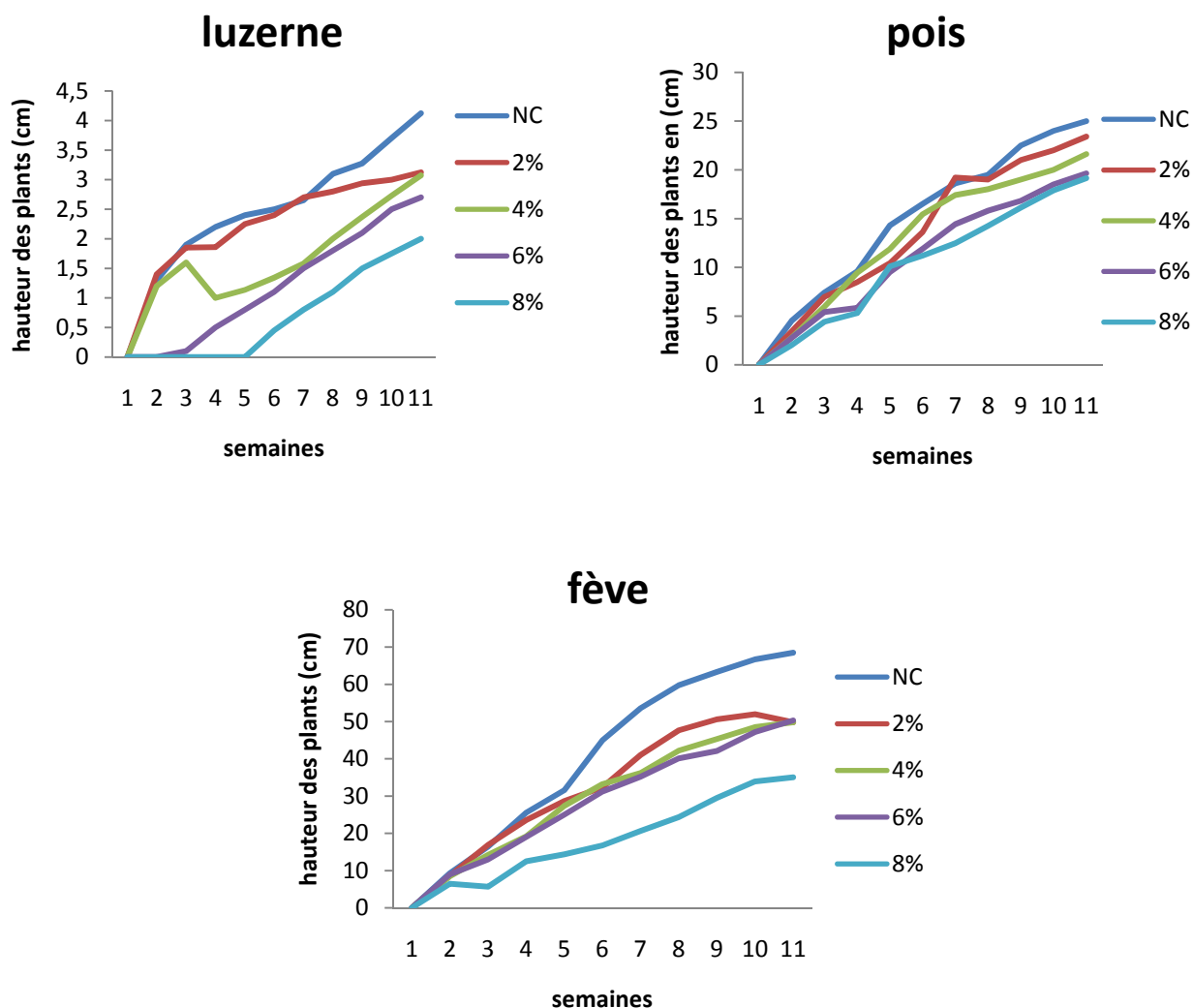
Pour le facteur espèce végétale, le test de Newman et Keuls a déterminé trois groupes homogènes. Le groupe A qui contient la luzerne, le pois qui appartient au groupe B, et le groupe AB contient la luzerne.

**Tableau VIII:** Groupes homogènes du taux d'inhibition de la longueur entre nœuds déterminés par le test Newman et Keuls pour le facteur espèce :

<b>Espèces</b>	<b>Moyennes</b>	<b>Groupes</b>
fève	43.33713	A
luzerne	35.10947	AB
pois	25.51251	B

### **I.1.3. Hauteur des plants :**

La figure 10, représente l'évolution hebdomadaire des hauteurs des plants de la fève, du pois et de la luzerne.



**Figure 10:** l'évolution hebdomadaire de la hauteur des plants de la fève, le pois et la luzerne cultivés dans les différents sols contaminés par le pétrole brut.

D'après la figure 10, au bout de la onzième semaine, nous avons remarqué que les plants de la fève ont atteint une hauteur de 68.5 cm, dans le sol témoin, et une réduction de la croissance des plants avec des valeurs de moyenne ne dépassent pas 50.3 cm dans les sols contaminés par le pétrole brut. En ce qui concerne le pois, la figure sus-citée, montre une évolution hebdomadaire de la croissance de ces plants, nous avons enregistré une valeur de 25cm dans le sol témoin, tandis que cette valeur n'a pas dépassé 23,4 cm dans les différents sols contaminés par le pétrole brut. Au bout de la dixième semaine, nous avons enregistré une augmentation hebdomadaire de la croissance des plants de la luzerne a atteint une valeur de moyenne de 4,12 cm dans le sol témoin, une hauteur des plants des valeurs de moyenne ne dépassent pas 3,12cm dans les sols contaminés. Au niveau du sol contaminé à 8%, nous avons

commencé la mesure de la hauteur à partir de la 5<sup>ème</sup> semaine et ça est du à un retard significatif de la germination des graines de la luzerne.

L'analyse de la variance (annexe I-3) a été réalisée après le calcul du taux d'inhibition, qui a dévoilé une différence hautement significative pour le facteur espèce végétale pour la hauteur des plants des onze semaines, ce qui confirme l'effet toxique des hydrocarbures vis-à-vis des trois espèces.

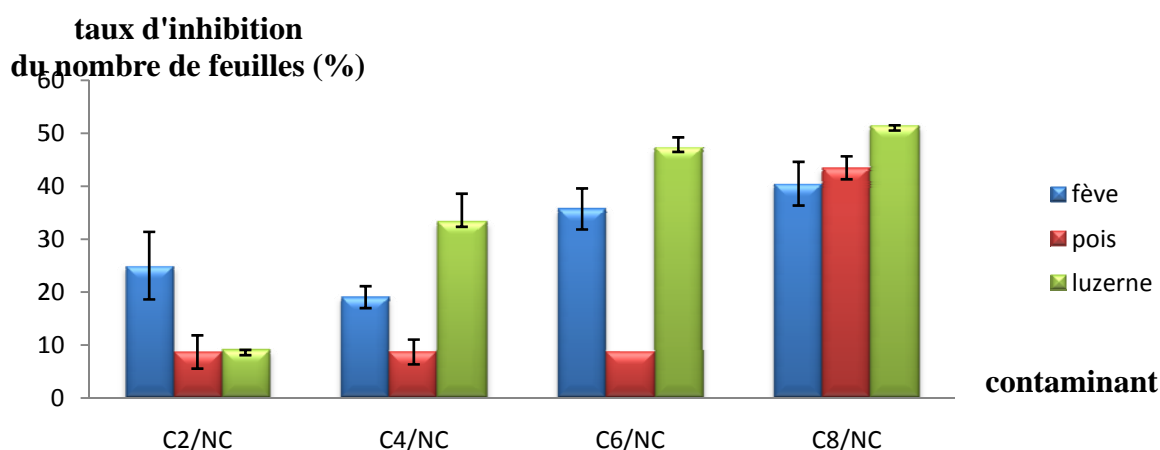
Le test de Newman et Keuls a fait sortir deux groupes homogènes A et B, le groupe A contient la fève et le groupe B contient la luzerne et le pois.

**Tableau IX:** Test de Newman et Keuls pour la hauteur des plants pour le facteur espèce végétale :

Espèces	Moyennes	Groupes
Fève	30.54745	A
Luzerne	20.09035	B
Pois	10.05647	B

#### I.1.4. Le nombre des feuilles par plant:

La figure 11, nous illustre taux d'inhibition du nombre des feuilles par plants des différentes espèces cultivées dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut durant les onze semaines de culture.



**Figure 11:** Taux d'inhibition du nombre des feuilles par plant de la fève, du pois et de la luzerne cultivés sur le sol différemment contaminés par le pétrole brut.

La fève présente un taux d'inhibition de moyenne de 40,47% du nombre des feuilles par plant dans les sols contaminés par le pétrole brut. Concernant les plants du pois, nous avons constaté que l'inhibition du nombre des feuilles a atteint une valeur maximale de 43,47%. La luzerne présente un taux d'inhibition plus important aller jusqu'à 51,51%. Nous avons remarqué que pendant la septième semaine, les feuilles des plantes dans les sols contaminés à savoir 6% et 8%, sont jaunies et se sont desséchées.

L'analyse de la variance du nombre des feuilles par plant (annexe I-tableau 4) a révélé des différences hautement significatives pour les facteurs concentration ainsi que l'espèce végétale.

Le test de Newman et Keuls a fait sortir trois groupes homogènes, le groupe A qui contient le sol contaminé à 8%, le groupe B contenant les sols contaminés à 6% et les sols contaminés à 4% et 2% sont classés dans le groupe C.

**Tableau X:** Test Newman et Keuls pour le taux d'inhibition du nombre des feuilles pour le facteur concentration :

Libelles	Moyennes	Groupes
NC/C8	43.31671	A
NC/C6	33.36980	B
NC/C4	21.81677	C
NC/C2	15.29644	C

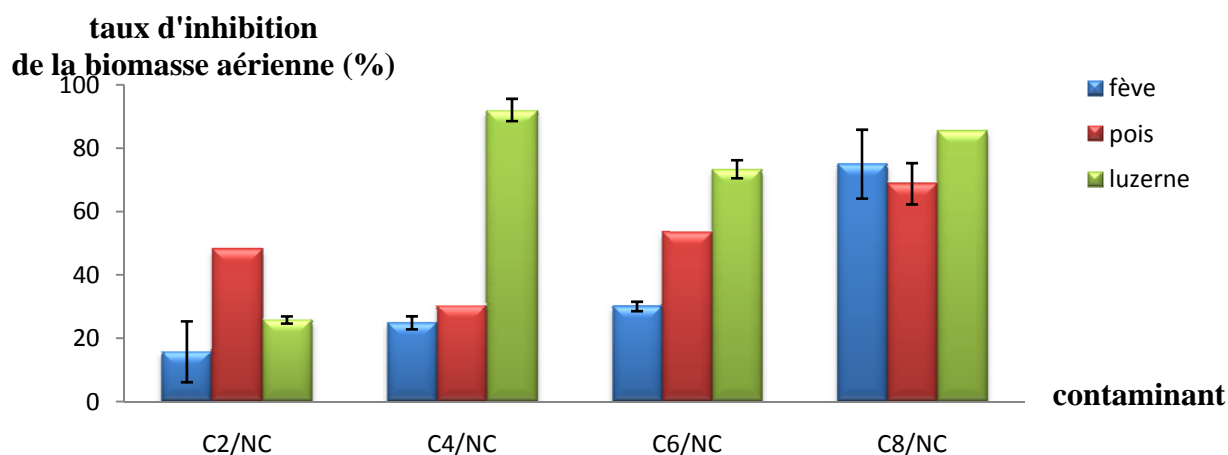
Le test de Newman et Keuls a fait ressortir trois groupes homogènes à savoir le groupe A contient la luzerne, la fève appartient au groupe B et le pois est classé dans le groupe C. Ce qui signifie la résistance du nombre des feuilles de pois devant les différentes concentrations du pétrole brut par rapport à celles de la luzerne et la fève.

**Tableau XI:** Test Newman et Keuls pour le taux d'inhibition du nombre des feuilles par plant pour le facteur l'espèce végétale :

Espèces	Moyennes	Groupes
Luzerne	37.87879	A
Fève	30.51948	B
Pois	17.39130	C

### I.1.5. Biomasse aérienne :

La figure 12, nous illustre le taux d'inhibition de la biomasse aérienne des différentes espèces cultivées sur les sols contaminés par le pétrole brut :



**Figure 12:** Taux d'inhibition de la biomasse aérienne de la fève, du pois et de la luzerne cultivés dans les sols contaminés par le pétrole brut.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que la fève présente un taux d'inhibition d'une valeur moyenne a atteint 75% dans les sols contaminés. Nous avons enregistré une augmentation du taux inhibition de la biomasse aérienne du pois avec l'augmentation de la concentration du pétrole a atteint une moyenne de 68,79%. Concernant la biomasse aérienne de la luzerne, nous avons constaté une inhibition de 92,09% dans les sols contaminés par le pétrole brut.

L'analyse de la variance de la biomasse aérienne (annexe I- 5) a révélé qu'il y a des différences très hautement significatives pour le facteur concentration ainsi que le facteur l'espèce végétale, et une différence significative pour l'interaction de deux facteurs (annexeI-6). Ceci signifie que les différentes concentrations de pétrole brut ont un effet sur la biomasse aérienne des trois espèces.

Le test Newman et Keuls a donné trois groupes homogènes, à savoir le groupe A qui contient le sol contaminé à 8%, le sol contaminé à 6% ainsi que le sol contaminé à 4% sont classés dans le groupe B. Le sol contaminé à 2% appartient au groupe C, qui montre que dans les sols contaminés à 2% ont moins d'effet toxique sur la biomasse aérienne.

**Tableau XII:** Test de Newman et Keuls pour le taux d'inhibition de la biomasse aérienne pour le facteur concentration :

Libelles	Moyennes	Groupes
NC/C8	74,61	A
NC/C6	48,42	B
NC/C4	48,20	B
NC/C2	26,27	C

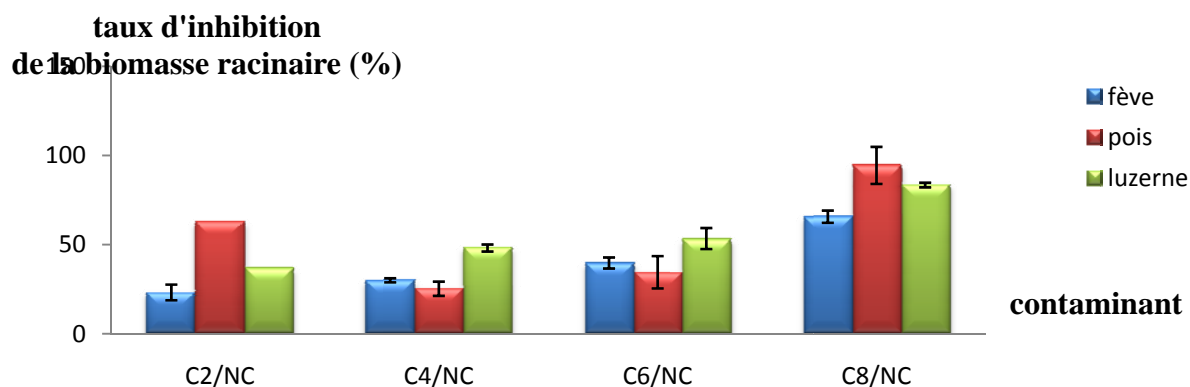
Le test de Newman et Keuls a fait sortir deux groupes homogènes, à savoir le groupe A contient la luzerne et le pois et le groupe B contient la fève, ce qui signifie que le pétrole a un effet moins toxique sur la biomasse aérienne de la fève.

**Tableau XIII:** Test de Newman et Kells pour le taux d'inhibition de la biomasse aérienne pour le facteur espèce végétale.

Espèces	Moyennes	Groupes
luzerne	66.8663594	A
pois	53.93834	A
fève	34.64674	B

#### I.1.6. Biomasse racinaire :

La figure 13, nous présente le taux d'inhibition de la biomasse racinaire pour les différentes espèces cultivées sur les sols contaminés par le pétrole brut :



**Figure 13:** Taux d'inhibition de la biomasse racinaire de la fève, du pois et de la luzerne dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut.

D'après les résultats obtenus dans notre étude (figure 13), le taux d'inhibition a atteint 65,69% dans les sols contaminés par le pétrole brut cultivé par la fève. Le pois présente un taux d'inhibition important d'une valeur moyenne de 94,46% dans le sol contaminé à 8%, il n'a pas dépassé 63,09% dans les autres sols contaminés. La luzerne présente un taux d'inhibition de 85,43% dans le sol contaminé à 8%, et une valeur n'a dépassé pas 53,43% dans les autres sols contaminés. Nous remarquons une inhibition importante dans les sols contaminés par le pétrole brut qui va influencer sur le rendement de la biomasse racinaire.

L'analyse de la variance de taux d'inhibition de la biomasse racinaire (Annexe I-7) a révélé une différence très hautement significative pour le facteur concentration, une différence hautement significative pour l'espèce végétale et une différence significative pour l'interaction des deux facteurs (Annexe I-8).

Le test de Newman et Keuls a fait sortir deux groupes homogènes A et B. le groupe A qui contient la concentration 8%, les concentrations 6%, 4% et 2% sont classées dans le groupe B.

**Tableau XIV :** Groupes homogènes pour le taux d'inhibition de la biomasse racinaire des trois espèces déterminés par le test Newman et Keuls pour le facteur concentration :

Libelles	Moyennes	Groupes
NC/C8	78.98304	A
NC/C6	42.16340	B
NC/C4	34.47123	B
NC/C2	33.92094	B

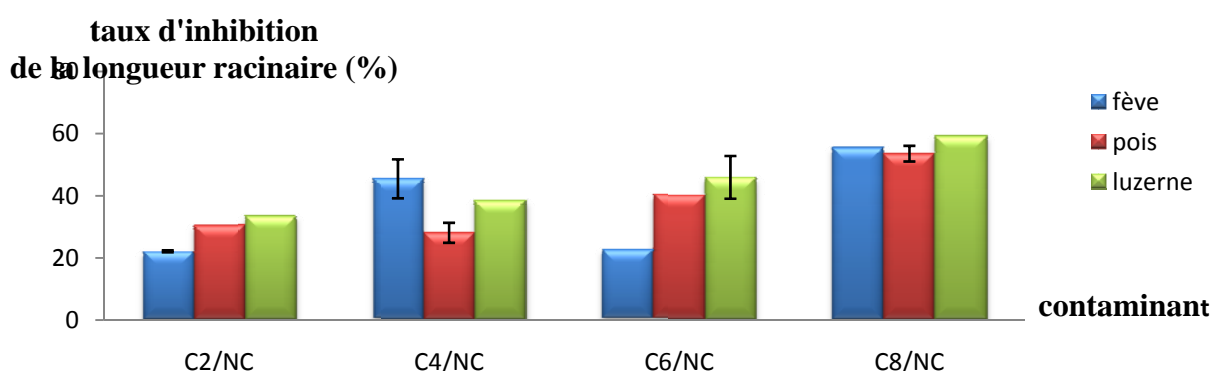
Le test de Newman et Keuls a déterminé trois groupes homogènes à savoir le groupe A contenant la luzerne et le pois, la fève appartient au groupe B, ce qui signifie la résistance de la fève par rapport à la luzerne et au pois.

**Tableau XV:** Test de Newman et Keuls pour le facteur espèce déterminé pour le taux d'inhibition de la biomasse racinaire :

Espèce	Moyennes	Groupes
pois	58.12500	A
luzerne	53.09135	A
fève	40.54025	B

### I.1.7. Longueur racinaire :

La longueur des racines des trois espèces à savoir la fève, le pois, et la luzerne à la fin de la culture dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut est représentée dans la figure 14.



**Figure 14:** Taux d'inhibition de la longueur racinaire des trois espèces dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que plus la concentration du pétrole brut augmente plus le taux d'inhibition augmente dont la valeur moyenne a atteint 55,56% dans le sol contaminé à 8% cultivé avec la fève. Concernant les plants du pois, l'inhibition du pétrole brut est d'une valeur moyenne de 53,57 % dans le sol contaminé à 8%. Nous avons enregistré une valeur de 59,25% dans le sol contaminé à 8% cultivé par la luzerne.

L'analyse de la variance de la longueur racinaire (Annexe I-9) a révélé que la différence est significative pour le facteur concentration.

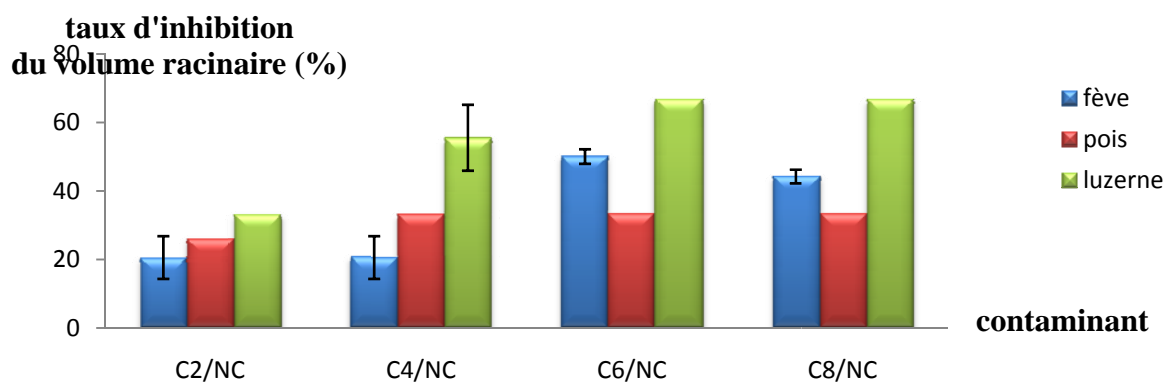
Le test de Newman et Keuls (tableau XVI), a fait sortir deux groupes homogènes. Le groupe A qui contient le sol contaminé à 8% et le groupe B qui contient les sols contaminés à 6%, 4%, et 2%.

**Tableau XVI:** Test Newman et Keuls pour le taux d'inhibition de la longueur des racines pour le facteur concentration:

Libelles	Moyennes	Groupes
NC/C8	55.49053	A
NC/C6	38.61287	B
NC/C4	35.59080	B
NC/C2	27.02977	B

### I.2.8. Volume racinaire :

La figure 15, présente le taux d'inhibition du volume racinaire de trois espèces dans les sols contaminés par le pétrole brut.



**Figure 15:** Taux d'inhibition du volume racinaire de trois plantes cultivées dans les différents sols contaminés par le pétrole brut.

Selon les résultats obtenus, nous avons enregistré que plus la concentration du pétrole brut est élevée plus le taux d'inhibition est important, et ça est observé dans les différents sols cultivés avec cultures à savoir la fève, le pois et la luzerne.

L'analyse de la variance (annexe I-10) a dévoilé qu'il y a une différence significative pour le facteur concentration et une différence hautement significative pour le facteur espèce végétale.

Le test de Newman et Keuls a fait classer les différentes concentrations dans deux groupes homogènes à savoir le groupe A qui contient la concentration à 6%, à 8%, le groupe AB qui contient la concentration à 4%, la concentration à 2% est classée dans le groupe B ce qui signifie que cette dernière a moins d'effet toxique sur le volume racinaire.

**Tableau XVII:** Groupes homogènes du taux d'inhibition du volume racinaire des trois espèces déterminé par le test Newman et Keuls pour le facteur concentration:

Libelles	Moyennes	Groupes
NC/C8	66.57677	A
NC/C6	59.75014	A
NC/C4	50.81019	AB
NC/C2	34.59934	B

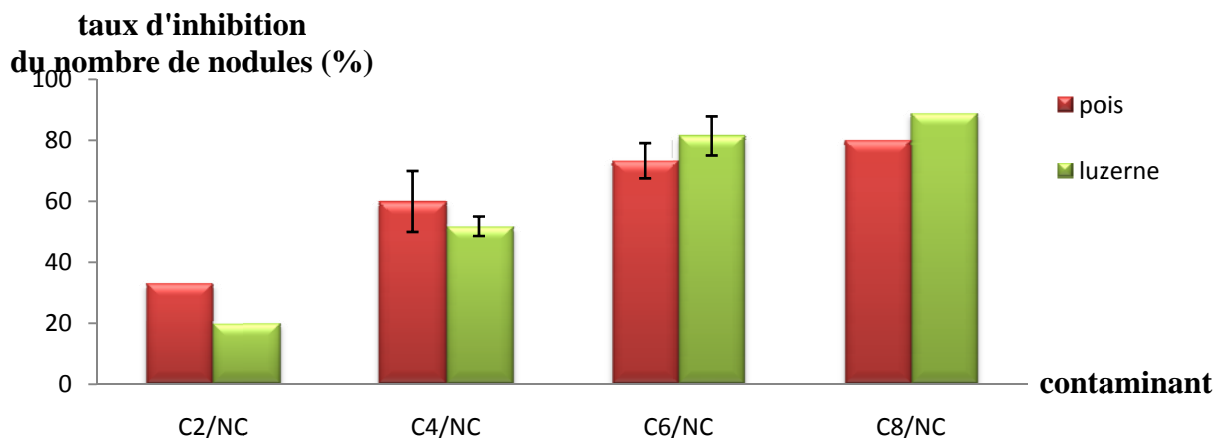
Le test Newman-Keuls (Tableau XX) donne deux groupes homogènes pour le facteur espèce végétale, le groupe A qui contient le pois, le groupe B contient la fève et la luzerne.

**Tableau XVIII:** Test Newman et Keuls pour le facteur espèce pour le taux d'inhibition du volume racinaire des trois espèces:

Espèces	Moyennes	Groupes
pois	66.25000	A
luzerne	59.09091	A
fève	38.28470	B

### I.1.9. Nombre des nodules :

La figure 16, illustre le taux d'inhibition du nombre des nodules de deux espèces cultivées dans les différents sols contaminés par le pétrole brut.



**Figure16:** Taux d'inhibition du nombre des nodules des trois espèces cultivées dans des sols différemment contaminés par le pétrole brut.

Selon les résultats obtenus, nous avons constaté que plus la concentration est élevée plus le taux d'inhibition est important. Nous avons marqué une absence totale du nombre des nodules sur la racine de la fève.

L'analyse de la variance des résultats obtenus pour le nombre des nodules des deux espèces confirme qu'il y'a une différence hautement significative pour le facteur concentration (Annexe I-11).

Le test de Newman et Keuls a fait sortir deux groupes homogènes A et B, le groupe A contient les concentrations C8%, C6% et C4%, et la concentration C2% est classée dans le groupe B.

**Tableau IXX:** Test Newman et Keuls pour le taux d'inhibition du nombre de nodules des deux espèces, pois et la luzerne pour le facteur de concentration :

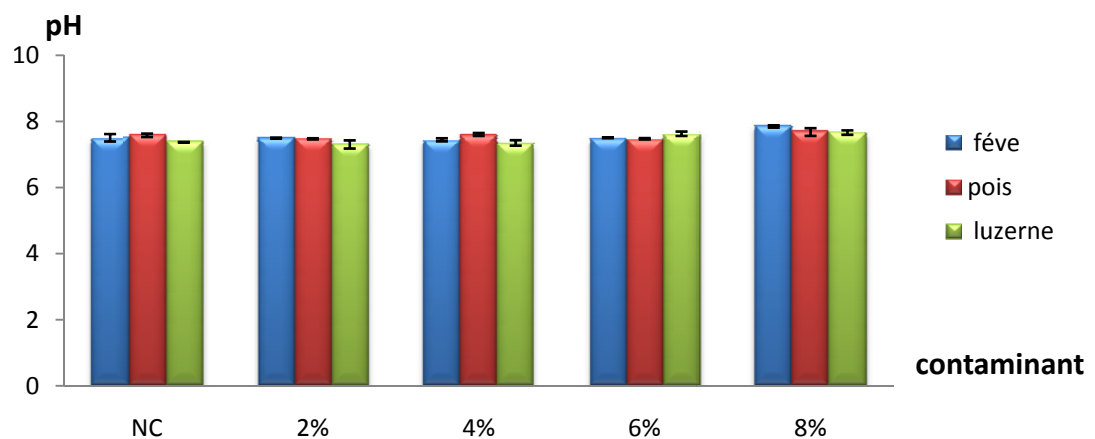
Libelles	Moyennes	Groupes
NC/C8	84.44444	A
NC/C6	77.40741	A
NC/C4	55.92593	A
NC/C2	26.66500	B

## I.2. Effets des hydrocarbures sur le sol :

A fin d'évaluer l'effet des hydrocarbures sur le sol, on a procédé à mesurer le pH et conductivité électrique des sols différemment contaminés par le pétrole brut.

### I.2.1. pH des sols :

La figure 17 représente le pH des différents sols contaminés par le pétrole brut cultivés par les trois espèces :



**Figure 17:** pH des sols différemment contaminés par le pétrole brut cultivés par les différentes plantes.

Les résultats présentés dans la figure 17, indiquent des valeurs moyennes du 7,50, 7,58, 7,30 dans les sols témoins de différentes cultures à savoir la fève, le pois et la luzerne. Les résultats enregistrés montrent une légère augmentation du pH dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut, une valeur moyenne (de toutes les concentrations) du pH qu'est de 7,85, 7,68 et 7,66 pour les sols contaminés à 8% cultivés par la fève, le pois et la luzerne respectivement.

L'analyse de la variance du pH a dévoilé une différence très hautement significative pour le facteur concentration (Annexe II-1).

Le test de Newman et Keuls a fait sortir deux groupes homogènes A et B, dont le groupe A contient la concentration 8%, tandis que les concentrations 6%, 4%, 2% et 0% sont classées dans le groupe B.

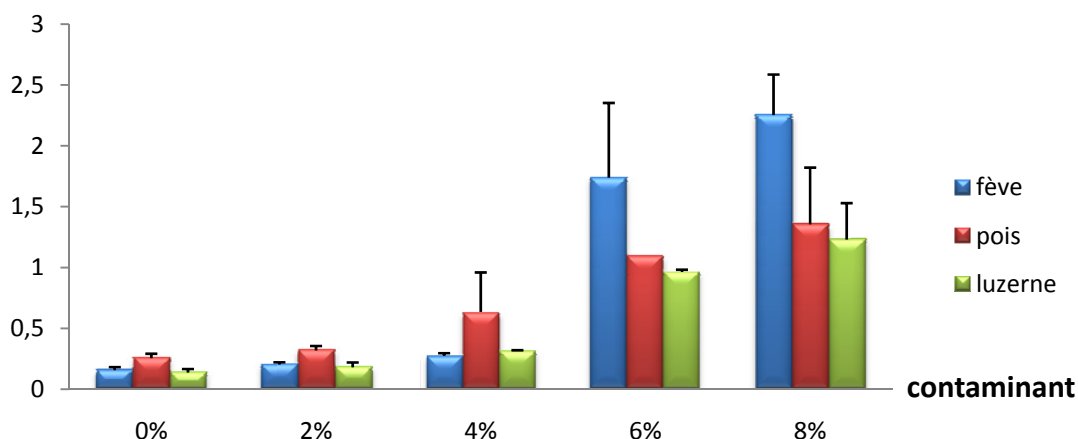
**Tableau XX:** Groupes homogènes du pH des sols différemment contaminés par le pétrole pour facteur concentration déterminés par le test Newman et Keuls.

Libelles	Moyennes	Groupes
C8	7.731111	A
C6	7.536667	B
C0	7.486667	B
C4	7.466667	B
C2	7.424444	B

### I.2.2. Conductivité électrique :

La figure 18 illustre la conductivité électrique des différents sols contaminés par le pétrole brut ainsi que le sol témoin:

#### conductivité électrique (mmhos/cm)



**Figure 18:** Conductivité électrique dans le sol témoin et les sols différemment contaminés par le pétrole brut cultivés par les différentes espèces.

La conductivité électrique dans les sols cultivés par les fèves est de 0,15 mmhos/cm dans le sol témoin, elle présente ensuite une valeur de 2,25 mmhos/cm dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut. Concernant le pois, une valeur de moyenne de 0.25 mmhos/cm dans le sol témoin, et une moyenne de 1,35 mmhos/cm dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut. Les résultats obtenus dans le sol témoin cultivé par la luzerne a atteint une moyenne de 0.13 mmhos/cm et des valeurs moyenne qui ne dépassent pas 1,22 mmhos/cm dans les différents sols contaminés par le pétrole brut.

Les résultats de l'analyse de la variance montrent une différence très hautement significative pour le facteur concentration (Annexe II-2).

Le test de Newman et Keuls a fait sortir deux groupes homogènes, le groupe A qui contient la concentration à 8%. Les concentrations à 6%, à 4 %, à 2% et à 0% sont classées dans le groupe B, ce qui signifie plus la concentration du pétrole brut est élevée plus la conductivité électrique augmente.

**Tableau XIX:** Groupes homogènes de la conductivité électrique déterminés par le test Newman et Keuls pour le facteur concentration:

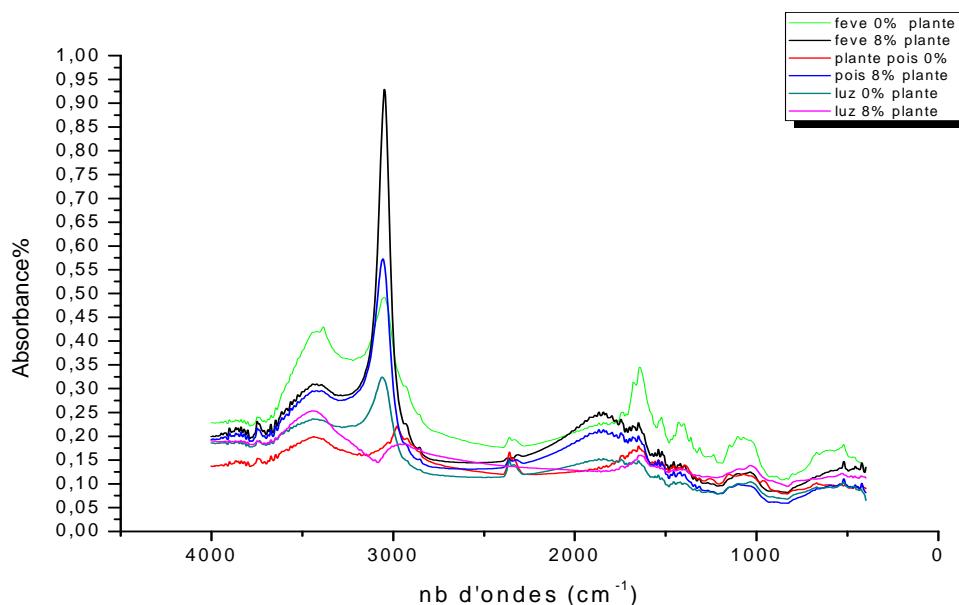
Libelles	Moyennes	Groupes
C8	1.9181663	A
C6	0.7633054	B
C4	0.4112272	B
C2	0.2621697	B
C0	0.1996987	B

### I.3. Analyse par la spectroscopie Infrarouge à transformé de Fourier (FTIR) :

Cette méthode d'analyse étant basée sur les énergies de liaisons (vibration, rotation, élongation), toute modification au niveau des liaisons chimique des hydrocarbures entraîne un changement dans le spectre.

#### I.3.1. Les espèces :

La figure suit représente les spectres (IR) de trois espèces à savoir la fève, le pois et la luzerne cultivées dans le sol contaminé à 8% sont comparées à celles cultivées dans le sol témoin.



**Figure 19 :** les spectres IR pour les différentes espèces fève, pois et la luzerne cultivées dans le sol témoin et le sol contaminé à 8%.

La fève cultivée dans le sol contaminé fait apparaître une série de pic dont le plus intense à  $1064,43\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement amines ( $\text{NH}_2$ ), le second à  $1651,59\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au acide carboxylique ( $\text{C-O}$ ), le troisième à  $1895,13\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement des cétones ( $\text{C=O}$ ), le quatrième à  $3046,09\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement des alcènes ( $=\text{C-H}$ ) et la bonde située à  $3379,7\text{ cm}^{-1}$  correspond au groupement des alcools ( $\text{OH}$ ).

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les plantes de la fève cultivées dans le sol contaminé comparées à celles cultivées dans le sol témoin, ont montré un changement dans la composition chimique, qui se traduit par une modification des bandes caractéristiques des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures, dont la diminution des amines ( $\text{NH}$ ), des acides carboxyliques ainsi que l'augmentation de l'intensité des cétones ( $\text{C=O}$ ) et les alcènes ( $=\text{C-H}$ ) et l'apparition des alcools ( $\text{OH}$ ) dans les sols contaminé.

Le pois cultivée dans le sol contaminé à 8%, fait apparaître une série de pic dont le plus intense à  $517,30\text{ cm}^{-1}$  qui correspond aux groupements disulfure ( $\text{S-S}$ ), le second à  $1074,44\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement des acides carboxyliques ( $\text{C-O-H}$ ), le troisième à  $1881,78\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement cétone ( $\text{C=O}$ ), le quatrième à  $2358,85\text{ cm}^{-1}$  qui

correspond au groupement acide triple liaison nitrile ( $C\equiv N$ ), le cinquième à  $2976,03\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement des alcanes ( $\equiv C-H$ ), et la bande située à  $3423,07\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement des alcools (OH).

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les plantes du pois cultivée dans le sol contaminé comparées à celles cultivées dans le sol témoin, ont montré un changement dans la composition chimique, qui se traduit par une modification des bandes caractéristiques des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures dont l'apparition des disulfures, la diminution des acides carboxyliques (C-O-H) ainsi que les acides triples liaisons nitrile ( $C\equiv N$ ), l'augmentation de l'intensité des cétones, des alcènes et des alcool, et l'apparition d'un nouveau groupement fonctionnel les alcools.

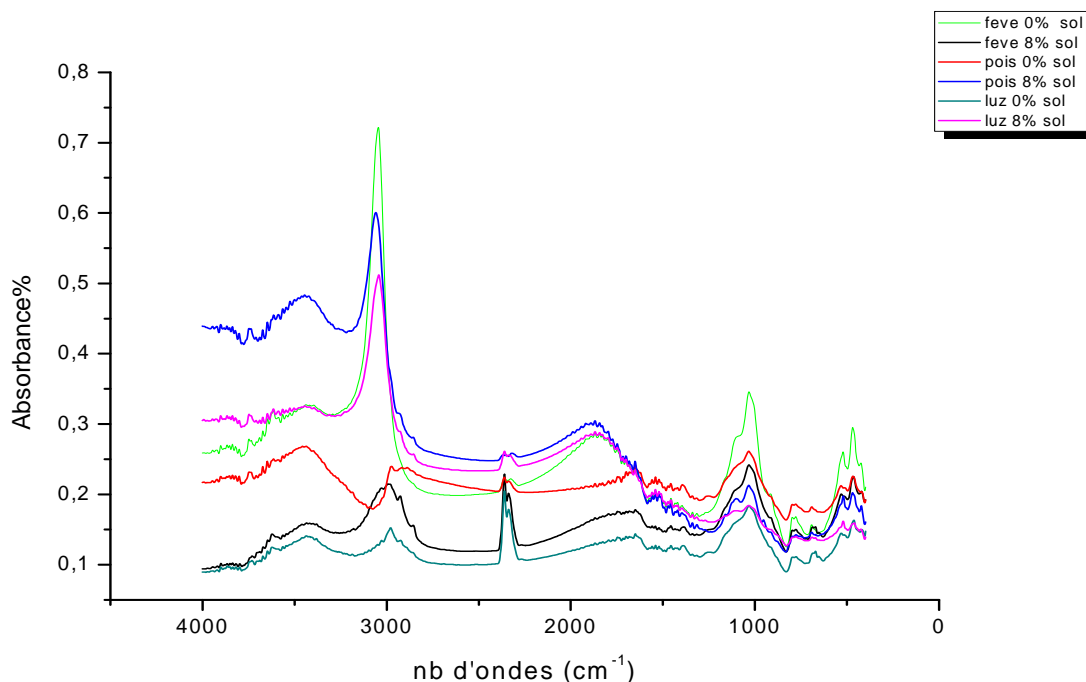
Concernant la luzerne cultivée dans le sol contaminé à 8%, comparée à celle cultivée dans le sol témoin, fait apparaitre aussi une série de pic, dont nous avons enregistré les pics les plus intenses à  $531,74\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement fonctionnel disulfure (S-S), le second à  $1034,85\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement acide carboxylique et le troisième à  $1635,22\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement fonctionnel alcène ( $=C-H$ ), et le quatrième à  $1849,88\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement fonctionnel cétone (C=O) et la bande située à  $3057,5\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement alcène ( $=C-H$ ) et la bande située à  $3443,06\text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement alcool (OH).

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les plantes de la luzerne cultivée dans le sol contaminé, ont montré un changement dans la composition chimique, qui se traduit par une modification des bandes caractéristiques des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures, nous avons noté la diminution des alcènes et les cétones dans le sol contaminé, l'augmentation de l'intensité des alcools dans le sol témoin et la disparition des acides triples liaisons nitriles.

Nous avons constaté que les trois plantes cultivées dans le sol contaminé ont montré un changement dans la composition chimique du pétrole brut, qui se traduit par une modification des bandes caractéristiques des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures comparées à celles cultivées dans le sol témoin.

### I.3.2. Les sols :

La figure suit illustre les spectres (IR) de différents sols témoins et contaminés cultivés par les différentes espèces à savoir la fève, le pois et la luzerne qui font apparaitre des séries de pics d'absorbance.



**Figure 20:** Les spectres IR des sols témoins et contaminés à 8% cultivés par les différentes espèces végétales.

Les sols contaminés cultivés par la fève fait apparaitre une série de pic dont le plus intense à  $1027,73 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement amines (NH), le second à  $2362,18 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au acide nitrile à triple liaison ( $\text{C}\equiv\text{N}$ ), le troisième et le quatrième à  $2919,32 \text{ cm}^{-1}$  et  $2986,04 \text{ cm}^{-1}$  respectivement qui correspondent au groupement alcane ( $\text{CH}_x$ ) et la bande située à  $3049,09 \text{ cm}^{-1}$  correspond au groupement acide carboxylique ( $\text{CH}_x$ ).

D'après les résultats, les plantes de la fève cultivées dans les sols contaminés à 8%, ont montré un changement dans la composition chimique par rapport à celles enregistrées dans les sols témoins, avec l'apparition des alcanes ( $\text{CH}_x$ ), la diminution des acides carboxyliques, la diminution des acides nitriles à triple liaison ( $\text{C}\equiv\text{N}$ ) ainsi que la diminution des amines (NH).

Les sols contaminés cultivés avec le pois fait apparaitre une série de pic dont le plus

plus intense à  $1034,4 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond aux groupements éther (C-O), le second à  $1584,87 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement amine (NH), le troisième à  $1888,45 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement cétone (C=O), le quatrième à  $2366,77 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement acide triple liaison nitrile (C≡N), le cinquième à  $3062,77 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement des alcènes (C=C), et la bande située à  $3449,76 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement des alcools (OH).

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les sols cultivés avec les plantes du pois ont montré un changement dans la composition chimique, qui se traduit par une modification des bandes caractéristiques des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures dont la diminution des éther (C-O), des amines (NH), des acides triple liaison nitrile (C≡N), ainsi que l'apparition des nouveaux groupements fonctionnels, les cétone (C=O) et les alcènes (C=C), ainsi que nous avons enregistré une augmentation des alcool (OH).

Concernant les sols contaminés cultivés par la luzerne fait apparaitre aussi une série de pic, dont nous avons enregistré les pics les plus intenses à  $1021,06 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement fonctionnel éther (C-O), le second à  $1865,1 \text{ cm}^{-1}$  correspond au groupement cétone (C=C) et le troisième à  $2358,85 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement fonctionnel des acides triple liaisons nitrile (C≡N), et le quatrième à  $2979,37 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement fonctionnel alcane (C-H) et la bande située à  $3046,09 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond au groupement alcool (OH).

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les plantes de la luzerne cultivée dans le sol contaminé, ont montré un changement dans la composition chimique, qui se traduit par une modification des bandes caractéristiques des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures dont nous avons marqué la stabilité des éthers, l'apparition des cétones, la disparition d'alcane, ainsi que l'augmentation de l'intensité d'acide triple liaison nitrile et l'alcool, comparés aux résultats obtenus dans le sol témoin.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que le changement qui a été enregistré dans les bandes caractéristiques des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures dans le sol contaminé après la culture de trois espèces qui est dû à la dégradation des hydrocarbures mais elle est moins importante dans les sols cultivés avec le pois et la luzerne.

## II. Discussion

D'après les résultats de trois espèces à savoir la fève, le pois et la luzerne, nous a permis de remarquer des différences existants au niveau des différents sols témoins et les sols contaminés par le pétrole brut, ce qui nous confirme l'effet toxique des hydrocarbures sur les végétaux qui se traduit par une diminution du taux de levée, de la hauteur et de la longueur des entre-nœuds, du nombre des feuilles, de la biomasse végétale, du volume racinaire ainsi que du nombre des nodules.

La levée constitue un premier diagnostic de réussite d'une culture. Une mauvaise levée peut avoir plusieurs causes liées à la conduite culturale (semis trop profond ou trop superficiel), climat ou à des parasites (Mazliak, 1982).

Selon Mazliak (1982), le taux de germination est satisfaisant à partir de 85%. En se référant aux taux de levée, le pourcentage de levée de la fève dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut est meilleur que celui obtenu avec la luzerne et le pois, cela peut être dû à la capacité de la fève à tolérer la pollution par le pétrole brut.

Dans ce présent travail, les résultats sont différents de ceux rapporté par Bergue (1986), la plus part des hydrocarbures n'ont pas d'effets irréversibles sur la germination de graines telles que la luzerne et le trèfle, alors que 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 aigüe 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. Bergue (1986) a signalé que les effets des hydrocarbures sur la flore dépendent aussi de l'espèce végétale et du stade physiologie de la végétation.

La comparaison des résultats de trois espèce à savoir la fève, le pois et la luzerne, nous a permis de remarquer la différence existant au niveau des différents sols contaminés par le pétrole brut. Ces résultats nous laissent supposer que la fève tolère la pollution par les hydrocarbures à certaines concentrations. Parallèlement, nous avons remarqué que les tiges de trois plantes (fève, pois et la luzerne) ont pris une couleur noirâtre. Les travaux réalisés par Takilt et Taouachi (2013), sur la luzerne et celui de Zerrouk et Ouhedda, (2013) sur la fève, la luzerne et le pois ont révélé que les hydrocarbures aux différentes concentrations ont un effet néfaste sur la croissance végétale. Chaineau et *al.*, (1997) ont associé la réduction de la

croissance des plantes ainsi que la longueur entre nœuds lors d'une contamination du sol par les hydrocarbures, au déficit alimentaire causée par les hydrocarbures. Ils ont montré également que la concentration du pétrole brut a un effet sur la physiologie du végétal. D'après Giddens (1976), quelque soit la concentration en hydrocarbures, la croissance des plantes telles que l'orge et le maïs est réduite. Cette réduction serait dû à un manque d'assimilation d'eau et d'éléments nutritifs et au changement des propriétés du sol. Selon Barea et *al.* (1983), Rovira et *al.* (1983) *in* Norini (2007), certains microorganismes, sont même capables de sécréter des phytohormones, substances régulant la croissance des plantes (auxines, gibérellines, cytoquinine, acide absissique et éthylène).

Les feuilles de trois espèces ont été affectées par la présence des différentes concentrations du pétrole brut dans le sol de culture, en présentant des chloroses, des jaunissements et une réduction du nombre des feuilles, ces résultats sont confirmés par les résultats de Dominguez (2004). Ces signes de toxicité peuvent être dus à la diminution de la photosynthèse, soit par altération des réactions métaboliques en inhibant la synthèse de chlorophylle ou bien par un manque d'éléments essentiels pour ce processus, qui seront lessivés par les hydrocarbures ou immobilisés et donc non assimilables, en tenant compte du fait que l'assimilation du nitrate a lieu principalement dans les feuilles et les racines. Selon Njoku et *al.* (2009), la pollution du sol par le pétrole brut entraîne une faible perméabilité et une faible infiltration de l'eau dans le sol, qui affecter le développement des feuilles. Selon Raymond et *al.* (1975) *in* Norini (2007), les haricots cultivés dans les sols contaminés par le pétrole brut développent des déformations dans les feuilles et un retard significative de la croissance.

L'effet toxique des hydrocarbures sur la biomasse végétale (aérienne et racinaire) s'exprime par un retard significatif de la croissance (diminution de la taille des plants, de leurs feuilles et de leurs racines), cette diminution se traduit par la réduction du poids sec (Chaineau et *al.*, 1997).

Morot (1997), a noté que la nutrition azotée limitait généralement la croissance, le développement et le rendement végétal. Cette réduction de la biomasse végétale nous laisse penser au sol qui est la source d'une grande partie des éléments nécessaires au développement végétaux, le changement de ses propriétés (changement de la teneur en humidité, du pH ce que nous avons confirmé dans notre étude et de la matière organique) influence la croissance végétale. Selon Norini (2007), la diminution de la biomasse 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 la substance soluble. Cette atteinte de la racine ne permet pas à la plante d'augmenter sa surface de contact avec le milieu de culture pour optimiser la nutrition minérale.

D'après Njoku et *al.* (2009), la diminution de la croissance des racines peut être due à la diminution de la pénétration de la racine ainsi l'inhibition de l'absorption des matériaux. Norini (2007) a noté que les nutriments minéraux sont prélevés sélectivement de la solution du sol par la racine, la concentration et la disponibilité en minéraux dans la solution du sol dépendent de la propriété de ce sol ainsi que les activités métaboliques des racines.

Des valeurs très faibles de volume racinaire qui correspond à un mauvais développement du système racinaire de la fève, pois et la luzerne. Dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut, nous avons constaté que le système racinaire de trois espèces végétales sont très fins, moins ramifiés et beaucoup moins développés. Selon Njoku et *al.*, (2009), la pollution du sol par le pétrole brut entraîne une faible infiltration de l'eau dans le sol qui vont affecter le développement des racines.

La diminution du nombre de nodosité a été remarqué chez les plants cultivés dans les sols contaminés par le pétrole brut nous laissent supposer que la présence du pétrole dans le sol engendre une inhibition de l'activité biologique, cette inhibition est d'autant plus importante que la concentration du sol en hydrocarbures est élevée, confirmé par Environ (1979) *in* Njoku (2009), en utilisant le soja dans des sols contaminés par le pétrole. Selon barriuso et *al.*,(1996), l'action toxiques des hydrocarbures provoque un ralentissement de l'activité microbienne du sol, se traduisent par des modifications des caractéristiques physiologiques de la microflore, entre autre, la diminution du système enzymatique mais aussi de la diversité des micro-organismes. La composition des communautés microbiennes de la rhizosphère dépend du type de la plante, du type de la racine, de l'âge de la plante (Norini, 2007). L'atteinte du nombre des nodules peut être du à la diminution de l'apport des éléments minéraux tel que le phosphore qui permet l'amélioration de la symbiose légumineuses-Rhizobia (Bordeau et *al.*, 1981 *in* Anonyme, 2000), ainsi, qu'elle peut être due à l'augmentation du pH et de la conductivité électrique confirmés dans notre présente étude.

Nous avons enregistré une absence totale du nombre des nodules sur la racine de la fève. Une telle différence peut être dûe aux conditions de culture ou des conditions physico-chimiques plus défavorables à la symbiose. La symbiose y serait limitée par certains facteurs

édaphiques (Anonyme, 2000). Selon Anonyme (1987), une fréquence élevée de nodulations avec une souche résulte d'une part de la compétitivité de cette souche, et d'autre part aussi du caractère de nodulation préférentielle contrôlée par la plante hôte. Selon Heller (1998), l'oxygène est nécessaire dans la fixation d'azote par l'activation de la chromoprotéine (légnémoglobines) au niveau de la plante hôte, tandis que l'accumulation des hydrocarbures dans le sol provoque l'absence de l'oxygène au niveau des pores qui sont occupés par les hydrocarbures au lieu de l'air.

Les valeurs de pH sont proches et cela peut être dû au pouvoir tampon assez élevé du sol de l'ITMAS, qui lui permet de résister aux variations du pH en cas d'apport d'acide ou de base, ainsi que sont des valeurs neutres et légèrement alcalin. Selon Andrade et *al.*, (2004), Ayotamuno et *al.*, (2004) in Njoku et *al.*, (2009), il existe une corrélation positive entre le pH du sol et la quantité des hydrocarbures ajoutée. Selon Song et *al.*, (1986) Phung (1988) in Njoku et *al.*, (2009), ont indiqué une diminution du pH suite à une dégradation du pétrole brut, cette diminution qui peut être due à l'accumulation des acides organiques (Merkl et *al.*, 2005a in Njoku et *al.*, 2009), ou à la production des radicaux d'acides par la nitrification (Tisdale et Nelson, 1975 in Njoku et *al.*, 2009). Les bactéries se développent mieux dans les milieux neutres et légèrement alcalins. Gabat (2004), a noté que l'activité microbienne est plus affectée par le pH.

Selon Mathieu et Pieltain (2003), la conductivité électrique d'une solution du sol est en indice des teneurs en sels solubles dans ce sol, elle exprime approximativement la concentration des solutés ionisables présents dans l'échantillon, c'est-à-dire son degré de salinité. Les hydrocarbures ont un effet sur la conductivité électrique en diminuant le degré de la salinité des sols.

D'après Chaineau et *al.*, (1997), ont noté une augmentation de la conductivité électrique qui entraînera l'inhibition de certaines plantes très sensibles à la présence des sels. Par contre les travaux réalisés par Khajehnouri (2011) in Amiri (2013) 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.

Le sol est un écosystème complexe mettant en jeu différentes interactions étroites, entre le sol, la plante et les microorganismes qui peuvent conditionner le devenir des polluants et en particulier les hydrocarbures, qui peuvent être soumis aux différents processus, l'absorption, adsorption et la biodégradation qui peuvent conduire à la diminution de la concentration des hydrocarbures.

Le changement qui a été enregistré dans les bandes caractéristiques des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures dans le sol contaminé à 8% cultivés par les différentes espèces à savoir la fève, le pois et la luzerne ; peut être dû à l'utilisation de ces hydrocarbures par ces plantes ou leur dégradation par les micro-organismes du sol. D'après les travaux réalisés par Dominguez (2004), la formation des nouveaux groupements fonctionnels est probablement due à l'activité microbienne. 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 inorganiques. Les composés en excès peuvent alors être utilisés comme source d'énergie par les plantes et les micro-organismes. D'après les résultats Belkacem et Rouas (2012), la biodégradation des hydrocarbures n'est pas totale.

D'après les résultats obtenus, les plantes cultivées dans les sols contaminés à 8%, ont montré un changement dans la composition chimique par rapport à celles cultivées dans les sols témoins, Ceci peut être expliqué par le fait que ces plantes ont absorbé puis stocké les hydrocarbures dans leurs tiges.

Des études ont montré que les plantes sont capables d'absorber et de métaboliser un grand nombre de polluants organiques et inorganiques. Les plantes secrètent des exsudats racinaires qui stimulent la bioremédiation microbienne au niveau de la rhizosphère (Abdelly, 2007). Selon Kaputcka et Reporter (1993), OCDE (1984) *in* Rivière (1998), les plantes ont la capacité de stockage, ou au contraire de dégradation, qui sont très variable en fonction de l'espèce. L'absorption par la racine et la translocation vers la partie aérienne est en fait limitée, très variable et dépendante de l'espèce végétale concernée et les conditions environnementales (Norini, 2007).

# *Conclusion générale*

### Conclusion générale :

Le travail réalisé a porté sur l'étude d'un sol agricole ayant subi une contamination organique causée par le pétrole brut pour essayer de mettre en évidence l'influence ou la capacité de trois plantes légumineuses (la fève, la luzerne et pois) de résister devant des différentes concentrations du pétrole brut, ce ci en vue de les utiliser en phytoremédiation.

D'après les résultats obtenus nous pouvons conclure, que l'action du pétrole se traduit par une diminution du rendement végétal avec l'augmentation de la concentration du pétrole et ça apparait clairement à partir de la concentration 6% suite à la diminution du taux de levée, de la hauteur des plantes, du nombre de feuilles par plant, de la longueur des entrenœuds, du nombre des nodules, de la biomasse végétale ainsi que du volume racinaire.

En parallèle ce travail nous a permis de montrer, quelque se soit la concentration de pétrole a un effet toxique sur les nodules des légumineuses, en comparant le taux d'inhibition des sols contaminés à celui des sols témoins cultivés par la fève, le pois et la luzerne de l'ordre de 100%, 88,88% et 80% dans les sols contaminés à 8%, et des valeurs de 100% et 20% dans les sols contaminés à 2% cultivés par la fève et le pois respectivement.

En comparant le pH des sols témoins au pH des sols contaminés cultivés par les différentes espèces, la concentration et la culture modifient ses valeurs.

La culture et le pétrole brut ont eu un effet sur la conductivité électrique, en augmentant le degré de la salinité des sols.

Au regard de ces résultats, nous nous apercevons que la toxicité des hydrocarbures est différentes d'une espèce à l'autre et que la fève résiste mieux vis-à-vis du pétrole brut, elle peut être utilisée comme moyen biologique de décontamination des sols pollués par les hydrocarbures.

Après l'analyse du sol et les plantes par la Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR), nous pouvons conclure que les légumineuses telles que la fève, le pois et la luzerne ont la capacité d'absorption, de translocation vers la partie aérienne et de stocker ou en contraire de dégrader les hydrocarbures qui sont très variable en fonction de l'espèce.

Pour une meilleure compréhension de ces phénomènes, nous recommandons :

- De réaliser une étude approfondie sur les microorganismes du sol, pour mieux comprendre le principe de la dégradation du pétrole brut par ces derniers.
- D'étudier les mécanismes enzymatiques impliqués dans la dégradation et la transformation des hydrocarbures qui permettra d'optimiser les techniques de phytoremédiation.
- Réaliser une étude sur la génétique de la fève afin d'identifier les gènes responsables de cette résistance à une certaine concentration des hydrocarbures dans le sol.

*Références*  
*bibliographiques*

- Abdely C. 2007** : biorémédiation/phytoremédiation. Institut supérieure et de la formation contenant. Université Tunis. 8. 144 p.
- Ali ahmed H et Belkadi H. 2006** : toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes et micro-organismes du sol et essai de phytoremédiation. Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Biologie. UMMTO. 69 p.
- Amiri N. 2013** : Ecotoxicité des hydrocarbures sur le sol et un essai de décontamination. Mémoire d'ingénieur. UMMTO. 70 p.
- Arnaud P., 2004.** Chimie organique. Edition DUNOD, Paris. 208 p.
- Barriusso E., Calvet R., Schiavon M. et Soulas S. 1996:** Etude et gestion des sols, les pesticides et les polluants organiques des sols, transformation et dissipation. 284 p.
- Bélangier E. 1998** : Purification et caractérisation des facteurs de nodulation de rhizobium (*Oxytropis arctobla*) souche N33. Thèse doctorat. Université Laval. 71 p.
- Belkacem S., et Rouas F., 2012** : Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes Fève (*Vicia faba* L.) et Trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.), Essai de phytoremédiation. Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Biologie. UMMTO. 54 p.
- Benamara Z et Mouhammad H. 2010** : Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes et des micro-organismes du sol et essai de phytoremédiation. Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Biologie. 69 p.
- Bergue J M. 1986** : la pollution des sols par les hydrocarbures. Bull. liaison labo et ch.146. réf 3141. 66 p.
- Bliefert C. et Perraud R., 2001** : Chimie de l'environnement (Air, Eau, Sol, Déchets). Edit. De Boeck. 343-359 p.
- Bocard C. 2006** : Marée noire et sols pollués par les hydrocarbures. Edition technique. 167 p.
- Bonnard M. 2010** : Relations biodisponibilité, génotoxicité, écotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les sols de friches industrielles. Thèse doctorat. Université Paul Verlaine. 175 p.
- Cadiere F. 2006** : Traitement biologique des sols pollués, recherches et Innovation .Département des sites pollués, direction Déchets et sols. ADEM (Angers). 32 p.
- Chaineau C H, Morel J L. et Oudot J., 1997** : Phytotoxicity and plant Uptake of Fuel Oil hydrocarbons. J. Environ. Qual. V26. PP :1478-1483.
- Chakraborty R et Coates J D. 2004** : Anaérobic degradation of monoaromatic hydrocarbons. Appel Microbiol biotechnol. 446 p.

- Chaux Foury., 2003.** Productions légumières Tome 3, légumineuses potagères, légumes fruits. CL. Foury. 563 p.
- Clément J.M., 1994.** Le technicien d'agriculture tropicale - les cultures maraîchères - Maisonneuve et Larousse --Larousse Agricole ACCT - CTA - Librairie Larousse 191-France.
- Colin F. 2000 :** Pollution localisées des sols et des sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés. Edition TEC & DOC. 417 p.
- Cronquist A., 1981.** An integrated system of classification of flowering plants, Columbia University. Press New York.
- Derkaoui K M. 2011:** les réponses morphologiques, physiologiques et anatomiques des racines de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.) vis-à-vis du stress salin. Thèse magister. Université d'Oran. 109 p.
- Dominguez E R et Pichtel J. 2004:** Phytoremediation of soil contaminated with used motor oil. II greenhouse studies. Ball state University. Environ ENG SCI.vol, 21. 180PP.
- Dorée A. 2000.** Florale pastorale de montagne. Légumineuses et autres plantes fourragères. Tome 2. 227 p.
- Duchaufour P., 2001 :** Introduction à la science du sol : sol, végétation et environnement. 6ème édition MASSON, Paris Milan Barcelone. 498 p.
- Duhoux E. et Nicole M. 2004 :** Biologie végétale : Association et interaction chez les plantes.166 p.
- Fattal P., 2008.** Pollution des cotes par les hydrocarbures. Presse universitaire de Rennes. 498 p.
- José F., 1999 :** Essai de biodégradabilité sur les sols contaminés par les hydrocarbures. 3<sup>ème</sup> Edition Dunod, Paris. 102-106 p.
- Heller R, Esnault R, Lance C.1998 :** physiologie végétale, nutrition. 6eme édition Dunod. Paris. 323 p.
- Institut Nationale de la Recherche Agronomique. 1987 :** Nutrition azotée des légumineuses. INRA publication. Paris. 358 p.
- Institut nationale de la recherche agronomique. 1994 :** Facteurs limitant la fixation symbiotique de l'azote dans le bassin méditerranéen. INRA éditions. Montpellier (France) : 337 p.
- Institut nationale de la recherche agronomique. 2000 :** Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le bassin méditerranéen. INRA éditions. Montpellier (France) : 417 p.

**Gabet S., 2004 :** Remobilisation d'hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'une tension d'origine biologique. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 176 p.

**Gage DJ. 2004:** Infection and invation of roots by symbiotic, nutrigen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiol Mol Biol Rev.*

**Giddens J., 1976 :** Spent motor oil effects on soil and crops. *J. Environ. Qual.* Vol 5. N° 2. 179-181 p.

**Girard C M., Walter CH.et Berthelin J., 2005:** Sols et environnement. Edition DUNOD, paris (France). 529 p.

**Karaboneye Fausta. 2013 :** Caractérisation de l'efficacité symbiotique de lignées africaines de Soya à haute promiscuité. Thèse doctorat. Université Laval. 123 p.

**Kolev N., 1976:** les cultures maraichères en Algérie, légumes, fruits, Ed.J.B. Baillière, Paris. Vol I. 186 p.

**Koller Émilien. 2004 :** traitement des pollutions industrielles (eau, air, déchet, sol, boues). Edition Dunod. Paris. 347 p.

**Lazerek F. 2008 :** analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTL liés au stress salin. Thèse doctorat. Toulouse III. 255 p.

**Lefebvre G. 1967 :** Introduction à la chimie des hydrocarbures .Sociétés des éditions techniques. Paris. 97 p.

**Lutz S. 2006 :** Evaluation du risque des de transfert des hydrocarbures aromatiques polycycliques du sol vers le lait des ruminants laitier. 184 p.

**Maes M., Schadek S. et Brahy Vincent. 2007:** la contamination locale des sols. 519 p.

**Mathieu C et Pieltain F. 2003 :** Analyse chimique des sols. Tome 2. 387 p.

**Mathieu M., 1994 :** la luzerne aujourd'hui. 1<sup>ère</sup> édition, Edition France agricole. 254 p.

**Mazliak P. 1982 :** Physiologie végétal, croissance et développement. Tome 2. 465 p.

**Mbengue Malick. 2010 :** Perception et transduction du signal bactérien facteur Nod dans l'établissement de la symbiose rhizobium-légumineuse : recherche et caractérisation de partenaires du LysMRLK LYK3, un récepteur putatif des facteurs Nod chez *Medicago truncatula*. Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier. 128 p.

**Militon C., 2007:** caractérisation des communautés procaryotique impliquent dans la bioremediation d'un sol pollué par des hydrocarbures et développements d'outils d'analyse a haut débit: les biopuces ADN. Thèse doctorat. Spécialité génomique et écologie microbienne. Université Blaise Pascal. 240 p.

**Morel j I, 2010** : stratégies de rémédiation in situ des sols pollués- la phytoremédiation. Laboratoire sols et environnement UMR 1120 INPL-INRA. 6 p.

**Morot J F. 1997** : assimilation de l'azote chez les plantes. Edition INRA. Paris. p 198

**Njoku k., Akinola O. Et Oboh B O., 2000** : Phytoremediation of crude oil contaminated soil. Edition marslandpress. 85p.

**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. 303p.

**Ould rabah N. 2012** : Essai de phytoremédiation des sols contaminés par les hydrocarbures. Thèse Magister. Université Mouloud Mammeri. 115 p.

**Oussama Zaki. 2008** : contribution à l'étude et à la modélisation de l'influence des phénomènes de transfert de masse sur le comportement mécanique de flacon en polypropylène. Thèse doctorat. Université Paris-Est. 192p.

**Redolf M, (2007)**. Etude de l'oxydation de différents types d'hydrocarbures par des procédés utilisant des techniques de décharges électriques non-thermiques a pression atmosphérique : application a la problématique du démarrage a froid. Thèse doctorat d'université paris XIII.

**Revellin Cecile. 2010** : Les symbioses fixatrices d'azote.UMR Agrécologie. INRA. Université de Bourgogne. 36 p.

**Revière J L. 1998** : Evaluation des risques écologiques des sols pollués. Edition. TECHNIQUE & DOCUMENTATION. 230p.

**Schnoor J.L et McCutcheon S.C., 2003**. Phytoremediation – transformation and control of contaminants. Dans wiley-interscience, Inc, NJ, USA, 987 p.

**Soltani M. 2004** : distribution lipidique et voies de décontamination métabolique chez quatre bactéries Gram négative hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse doctorat. Paris 6. 284 p.

**Sonatrach. 2010** : [WWW.Algerieenergie.com](http://WWW.Algerieenergie.com)

**Takilt O et Taouachi F. 2013** : Effets de la concentration du pétrole sur la croissance du trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) et de la luzerne (*Medicago sativa* L.) et essai de phytoremédiation. 60 p.

**Techniques culturelles simplifiées. 2008** : Légumineuses : il est urgent de les réhabiliter. Edition N48. 14 p.

**Zerrouk Rachid et Ouhabda Merzouk.** 2013 : Phytotoxicité des hydrocarbures vis-à-vis de la luzerne, du pois et de la fève. Mémoire d'Ingénieur d'Etat. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou. 56 p.

# *Annexes*

## ANNEXES

**Annexe I:** Analyse de la variance pour les différents paramètres pour évaluer la capacité de résistance de trois espèces à différentes concentrations du pétrole brut :

**1-1** tableau d'Analyse de la variance du taux de levée des trois espèces cultivées dans les différents sols contaminés par le pétrole brut:

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Concentration	3	3817.1	1272.35	5.2832	0.012035 * S
Espèce	2	4348.2	2174.09	9.0275	0.003031 **HS
Concentra*sp	6	3077.0	512.83	2.1294	0.114451
Residuals	14	3371.6	240.83		

**I-2 :** Tableau d'analyse de la variance de la longueur entre nœuds pour chaque plant de trois espèces dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut :

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Concentration	3	2376.68	792.23	6.8031	0.002920 ** HS
Espèce	2	1536.07	768.04	6.5954	0.007099 **HS
Concentra*sp	6	741.64	123.61	1.0615	0.420612 NS
Residuals	18	2096.11	116.45		

**I-3 :** Tableau d'analyse de la variance pour la hauteur des plants de trois espèces cultivées dans les différents sols contaminés par le pétrole brut pendant la durée de la culture.

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Concentration	3	3634.6	1211.5	2.0705	0.138069 NS
Espèce	2	9280.7	4640.4	7.9305	0.003133 ** S
Conce*sp	6	3862.4	643.7	1.1002	0.398113 NS
Residuals	19	11117.4	585.1		

## ANNEXES

**I-4:** Tableau d'analyse de la variance du nombre de feuilles par plant de trois espèces cultivées dans les différents sols contaminés par le pétrole brut:

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
<b>Concentration</b>	3	2733.3	911.11	6.8545	0.003959 **
<b>Espèce</b>	2	1829.9	914.95	6.8834	0.007568 **
<b>Concentra*sp</b>	6	1171.7	195.29	1.4692	0.254147 NS
<b>Residuals</b>	15	1993.8	132.92		

**I-5:** Tableau d'analyse de la variance de la biomasse aérienne de trois espèces végétales cultivées dans les différents sols contaminés par le pétrole brut :

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
<b>Concentration</b>	3	5867.2	1955.75	16.9771	0.0002994 ***
<b>Espèces</b>	2	5273.9	2636.94	22.8902	0.001852 ***
<b>Concentra*sp</b>	6	3699.1	616.52	5.3518	0.0102205 *
<b>Résiduels</b>	10	1152.0	115.20		

## ANNEXES

**I-6:** Tableau des Groupes homogènes de la biomasse aérienne pour l'interaction de deux facteurs concentration\*espèce déterminée par le Test de Newman et Keuls :

<b>Interaction</b>	<b>Moyennes</b>	<b>Groupes</b>
C4/NC * luzerne	92.09677	A
C8/NC * luzerne	85.48387	A
C8/NC * fève	75.00000	A
C6/NC * luzerne	73.38710	A
C8/NC * pois	68.79433	A
C6/NC * pois	53.54610	AB
C2/NC * pois	48.22695	AB
C4/NC * pois	30.33000	B
C6/NC * fève	30.07246	B
C2/NC * luzerne	25.80645	B
C4/NC * fève	24.90942	B
C2/NC * fève	15.76087	B

**1-7:** Tableau d'analyse de la variance de la biomasse racinaire de trois espèces cultivées dans des sols différemment contaminés par le pétrole brut:

<b>Source de variation</b>	<b>Df</b>	<b>Sum Sq</b>	<b>Mean Sq</b>	<b>F value</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>
<b>Concentration</b>	3	9023.4	3007.81	29.7438	4.322e-06 *** THS
<b>Espèce</b>	2	1393.6	696.78	6.8904	0.009116 ** HS
<b>Concentra*sp</b>	6	1829.9	304.98	3.0159	0.045006 * S
<b>Residuals</b>	13	1314.6	101.12		

## ANNEXES

**1-8 :** Tableau du test de Newman et Keuls pour l'interaction des deux facteurs pour la biomasse racinaire :

<b>Interaction</b>	<b>Moyenne</b>	<b>Groupe</b>
NC/C8*luzerne	94.46494	A
NC/C8*pois	83.43750	B
NC/C8*fève	65.69212	C
NC/C2*luzerne	63.09963	C
NC/C6*pois	53.43750	BCD
NC/C4*pois	48.12500	CD
NC/C6*fève	39.73747	CD
NC/C2*pois	36.87500	CD
NC/C6*luzerne	34.52820	CD
NC/C4*fève	30.01193	CD
C4*luzerne	25.27675	D
CC/C2*fève	23.21002	D

**1-9:** tableau d'analyse de la variance de la longueur racinaire de trois espèces cultivées dans des sols différemment contaminés par le pétrole brut:

<b>Source de variation</b>	<b>Df</b>	<b>Sum Sq</b>	<b>Mean Sq</b>	<b>F value</b>	<b>Pr (&gt;F)</b>
<b>Concentration</b>	3	1730.38	576.79	7.6002	0.01816 *
<b>Espèce</b>	2	241.71	120.86	1.5925	0.27875
<b>Concentra*sp</b>	6	625.28	104.21	1.3732	0.35499
<b>Résiduels</b>	6	455.35	75.89		

## ANNEXES

**I-10 :** Tableau d'analyse de la variance pour le volume racinaire de trois espèces végétales cultivées dans les différents sols contaminés par le pétrole brut:

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
<b>Concentration</b>	3	3817.1	1272.35	5.2832	0.012035 * S
<b>Espèce</b>	2	4348.2	2174.09	9.0275	0.003031 ** HS
<b>Concentra*sp</b>	6	3077.0	512.83	2.1294	0.114451 NS
<b>Residuels</b>	14	3371.6	240.83		

**I-11:** Tableau d'analyse de la variance du nombre de nodules du pois et la luzerne dans les sols différemment contaminés par le pétrole brut:

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
<b>concentration</b>	3	5093.3	1697.75	9.1883	0.005704 ** HS
<b>Espèce</b>	1	30.9	30.85	0.1670	0.693523 NS
<b>Concentra*sp</b>	3	296.7	98.89	0.5352	0.671047 NS
<b>Résiduels</b>	8	1478.2	184.77		

**Annexe II :** Analyse de la variance pour les différents paramètres afin d'évaluer l'effet du pétrole bru sur le sol :

**II-1 :** Tableau d'analyse de la variance du pH des sols différemment contaminés par le pétrole brut :

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
<b>Concentration</b>	4	0.51765	0.129413	7.3484	0.0002994 ***
<b>Espèce</b>	2	0.09740	0.048702	2.7654	0.0790195 NS
<b>Concentra*sp</b>	8	0.23837	0.029797	1.6919	0.1414201 NS
<b>Residuals</b>	30	0.52833	0.017611		

**II-2** : tableau d'analyse de la variance de la conductivité électrique pour les sols différemment contaminés par le pétrole brut :

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
<b>concentration</b>	4	17.7470	4.4367	16.5261	5.848e-07 *** THS
<b>Espèce</b>	2	0.0991	0.0495	0.1845	0.8325 NS
<b>Concentra*sp</b>	8	2.4958	0.3120	1.1621	0.3568 NS
<b>Residuals</b>	27	7.2486	0.2685		

**Normes d'interprétation : Mémento de l'agronome (1993)**

**Annexe III** : Norme d'interprétation de la réaction du sol (pH) :

Valeur de pH	Quantification
<4.5	Extrêmement acide
4 à 5	Très fortement acide
5.1 à 5.5	Fortement acide
5.6 à 6.5	Faiblement acide
6.6 à 7.3	neutre
7.4 à 7.8	Légèrement alcalin
7.9 à 8.4	Moyennement alcalin
8.5 à 9	Fortement alcalin
>9.1	Très faiblement alcalin

**Annexe IV**: Norme d'interprétation de la réaction du sol (conductivité électrique) :

Valeur de CE (ms/cm)	Quantification du sol
<0.6	Non salé
0.6 à 1.6	Peu salé
1.6 à 2.4	Salé
2.4 à 6.0	Très salé
>6	Extrêmement salé

**Annexe V:** bande d'absorption et groupement fonctionnel :

<b>Nombre d'onde</b>	<b>Groupements fonctionnels</b>
3590-3650	Alcool et phénol OH libre
2850-2970	Alcanes (C-H)
2500-3300	Acide OH associé
2200-2400	Acide triple liaison nitriles C≡N
1785-1815	VC-O Halogénure
1610-1680	Alcènes (C=C)
1340-1470	Alcanes (C-H)
1050-1300	Alcools, éthers, acides carboxyliques, esters (C-O)
1017-1150	Ethers C-O et C-OH Alcool primaire
675-995	Alcènes(C=C)