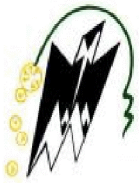


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMERI TIZI-OUZOU
FACULTÉ DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Mémoire de fin d'études



Département Biologie
Filière : Biologie
Spécialité : Biodiversité et Environnement

Thème

**Contribution à l'atténuation de la pollution du sol pollué
par les métaux lourds par voie phytoremediation.**

Présenté par : M^{elle} OUIDIR Ouerdia.

Membre de jury :

Présidente : Mme LARDJANE N.	Maître de conférences A U.M.M.T.O.
Promotrice : Mme SADOUDI/ALI AHMED DJ.	Professeur A U.M.M.T.O.
Co-promotrice : Mme MESBAHI N.	Doctorante A U.M.M.T.O.
Examineur : Mr OUDJIANE A.	Maître de conférences A U.M.M.T.O.

2017/2018

Remerciement

Tout d'abord, je tiens à remercier «**Dieu**» de m'avoir inspiré la chance, la volonté et surtout le courage et la patience pour mener ce travail à terme.

Je tiens à remercier vivement ma promotrice Meme **Sadoudi Ali Ahmed DJ** pour m'avoir encadré ainsi que pour ses orientations et ses précieux conseils et de m'avoir guider tout le long de ce travail.

C'est avec beaucoup de gratitude que je remercie ma Co-Promotrice **Mlle MESBAHI**, de m'avoir guider et prodiguer tous les conseils indispensables et surtout pour sa disponibilité permanente. Ce travail n'aurait pas été le même sans ses orientations.

Je remercie **Mme LARDJANE .N.** qui a fait l'honneur d'être la présidente de notre jury.

Je tiens à remercier **Mr OUDJIANE A.** qui a accepté d'évaluer notre travail.

J'adresse mes remerciements à tous mes enseignants et les ingénieurs des laboratoires pédagogique de Microbiologie, de physico-chimie I et II, pour leurs soutien, et d'avoir mis à notre disposition le matériels nécessaires particulièrement pour leurs conseils et leur gentillesse tout au long de mes études.

Dédicaces

Je dédie :

*Aux personnes les plus chères a mon cœur et qui ont attendu avec
patience les*

Fruits de leur bonne éducation,

À mes chers parents.

À ma grand-mère.

À mes frères et sœur Kaci, Aziz et Kahina et leurs familles.

À tous mes amis et cousines

A toute la famille OUIDIR

À toute la Promotion Biodiversité et Environnement « 2017/2018».

*À toutes les personnes que je porte dans le cœur et qui se reconnaîtront
car elles en font autant.*

OUEKDIA.

2.3.2. Les micros polluants	4
2.4. Traitement des boues	5
2.4.1. la stabilisation des boues	5
2.4.2.L déshydratation	6
2.4.2.Pasturisation des boues	6
2.5. Destination des boues traitées	6
2.6. Contraintes d'utilisations agricoles des boues	8

Chapitre II: la pollution de sol par les métaux lourds.

1. Définition de la pollution du sol.....	10
2. Définition des elements traces métalliques.....	10
3. Origine des métaux lourds	11
4. L'impact des métaux lourds sur l'environnement.....	11
4.1. Effet sur le sol	11
4.2. Effet sur la végétation.....	12
4.3. Effet sur les microorganisme	12
4.4. Impact sur la santé.....	13
5. Les technologies de réhabilitation des sols contaminés par les ETM	13
5.1. La biorémédiation	14
5.1.1. La biorestauration	14
5.1.2. La bioaugmentation.....	14
5.1.3. La biostimulation.....	14
5.2. La phytoremédiation	15
5.2.1. Définition de la phytoremediation.....	15
5.2.2. <i>Avantages</i> et inconvénients de la phytorestauration.....	15
5.2.3. Les différents modes de phytoremediation	17

Chapitre III : Matériel et méthode

1. Matériels	21
1.1. Matériel biologique	21
1.1.1. Sol pollué	21
1.1.2. Sol non pollué.....	22
1.1.3. Substrat.....	22
1.1.4. Plantes	23
1.2. Equipement de laboratoire.....	23
2. METHODES	23
2.1. Analyses physico –chimiques.....	23
2.1.1. Analyse granulométrique	23
2.1.2. Mesure de l’humidité	24
2.1.3. Potentiel d’hydrogène (pH).....	24
2.1.4. Conductivité électrique	24
2.1.5. Mesure de taux de carbone organique et le taux de la matière organique.	25
2.1.6. Dosage de la teneur en azote totale (NT) et en phosphore.....	26
2.1.7. Dosage des éléments traces métalliques dans le sol	27
2.2. Dénombrement de la microflore totale du sol	28
2.3. Méthode de phytoremédiation	30
2.3.1. Tests de germination.....	31
2.3.2. La mise en place de l’essai de phytoremediation	31
2.3.3. Suivi de la croissance des végétaux.....	32

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Résultats des analyses des échantillons de sol.....	35
1. 1. Granulométrie	35
1.2 L’Humidité	35
1.3. Le potentiel d’hydrogène (pH)	36

1.4. La Conductivité électrique.....	36
1.5. Le taux du carbone organique totale et de matière organique.....	36
1.6. Eléments azotés et phosphorés	37
1.7. Le rapport C/N	37
1.8. La microflore totale du sol.....	37
1.9. Teneur en ETM dans le sol pollué	38
2. Résultats de la phytoremédiation	38
2.1. Test de germination.....	38
1.2. La hauteur de la tige.....	40
2.3. La croissance foliaire des plantes.....	41
2.4. L'élongation racinaire	42
2.5. La biomasse sèche.....	43
2.6. Evolution de la flore du sol.....	46
2.7. Résultats de rendement de la phytoremédiation	47

Conclusion et perspectives.

Références bibliographiques

Annexes

Abréviations

A.D. E.M.E : Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie

C: Carbone

Ca: Calcium

Cd: Cadmium.

CE : conductivité

CEC :capacité d'échange cationique

Cl : chlorure

CO2 : dioxyde de carbone

COT : Carbone organique totale

Cu : cuivre

ETM : élément trace métallique

Fe : fer

Hg : mercure

LB : LURIA et BERTANI

MO : matière organique

MS: matière sèche

ONA : office national d'assainissement

Pb : plomb

pH : potentiel d'hydrogène

SAA : Spectrophotomètre absorption atomique

SNP : sol non pollué

SP: sol pollué.

Spa: sol pollué amande

STEP: station d'épuration

Sub a: fertilisant.

Zn : Zinc.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau01 : seuils en éléments traces métalliques et organique pour l'épandage des boues résiduelles sur un sol cultivé en Franc	9
Tableau 02 : Matériel et produits utilisés dans les expériences	22

LISTE DES FIGURES

Figure 01 Schéma du prétraitement dans une station d'épuration	1
Figure 02 : Classification périodique des éléments chimiques	11
Figure 03 : Les différentes stratégies de phytoremédiation utilisées pour dépolluer les environnements contaminés en métaux lourds	19
Figure04: Localisation de la station d'épurations de Reghaia.....	20
Figure 04: (a) Système de chauffe-ballon avec réfrigérant et (b) solution de l'extrait de minéralisation	26
Figure 05 : Spectromètre d'absorption atomique de marque «ANALYTIK JENA»	27
Figure0 6 : Schéma du protocole du dénombrement de la microflore totale du sol.....	29
Figure 07 : Taux de germination des trois espèces végétale testées selon l'échantillon de sol.	37
Figure 08 : Illustration de l'évolution de la hauteur moyenne des tiges chez les espèces végétales testées	38
Figure 10 : Représentation du nombre de feuilles des trois plantes cultivées sur différents ...	39
Figure 11 : L'évolution de l'élongation racinaire moyenne des trois espèces selon le type de traitement de sol	41
Figure 12 : Présentation des valeurs de la biomasse aérienne (a) et racinaire (b) des espèces végétales testées selon le milieu de culture	42
Figure 13 : Evolution de la flore microbienne dans les échantillons de sol en fin de culture..	45
Figure 14 : illustration de taux d'atténuation des métaux lourds dans le sol pollué.....	46



Introduction

Les eaux usées issues des diverses activités urbaines ne peuvent être rejetées telles quelles dans l'environnement, car elles sont riches de divers polluants. Elles doivent donc subir, avant leur rejet dans le milieu naturel, un traitement d'épuration. Cependant le principal déchet produit par le traitement des eaux usées des stations d'épuration urbaines nommé « **boues résiduaire** » se caractérise souvent par une teneur élevée en éléments-traces métalliques (ETM).

Le rejet de ces boues dans la nature pose le risque de la contamination du sol et la nappe phréatique par les ETM.

L'accumulation des métaux lourds dans l'environnement peut se répercuter sur la santé des êtres humains et des animaux. Le développement de techniques efficaces pour décontaminer les sites pollués est devenu indispensable.

La restauration des sols pollués par les métaux lourds par des traitements physico-chimiques est très coûteuse et limitée. A cet effet, depuis quelques années, de nouvelles technologies biologiques sont en développement pour traiter des sols contaminés par les métaux lourds.

La capacité de certaines plantes à tolérer ou même à accumuler des métaux a permis d'ouvrir de nouvelles voies de recherche sur le traitement des sols dont la finalité est l'usage de ces plantes pour minimiser la pollution dite « phytoremédiation ».

La phytoremédiation regroupe un ensemble de technologies qui repose sur les différentes interactions impliquant les plantes, le sol et les micro-organismes présents dans la rhizosphère dans le but d'y dégrader, extraire ou stabiliser différents contaminants organiques ou inorganiques.

Au niveau de la station d'épuration de Reghaia (STEP), une partie des effluents collectés sont issus d'activités industrielles caractérisés par la présence d'une quantité importante en éléments métalliques. A la suite du traitement de ces effluents, les boues résiduaires produites sont souvent chargées en ces éléments toxiques dont la gestion est une problématique car l'épandage de ces boues présente un grand risque de la pollution des sols.

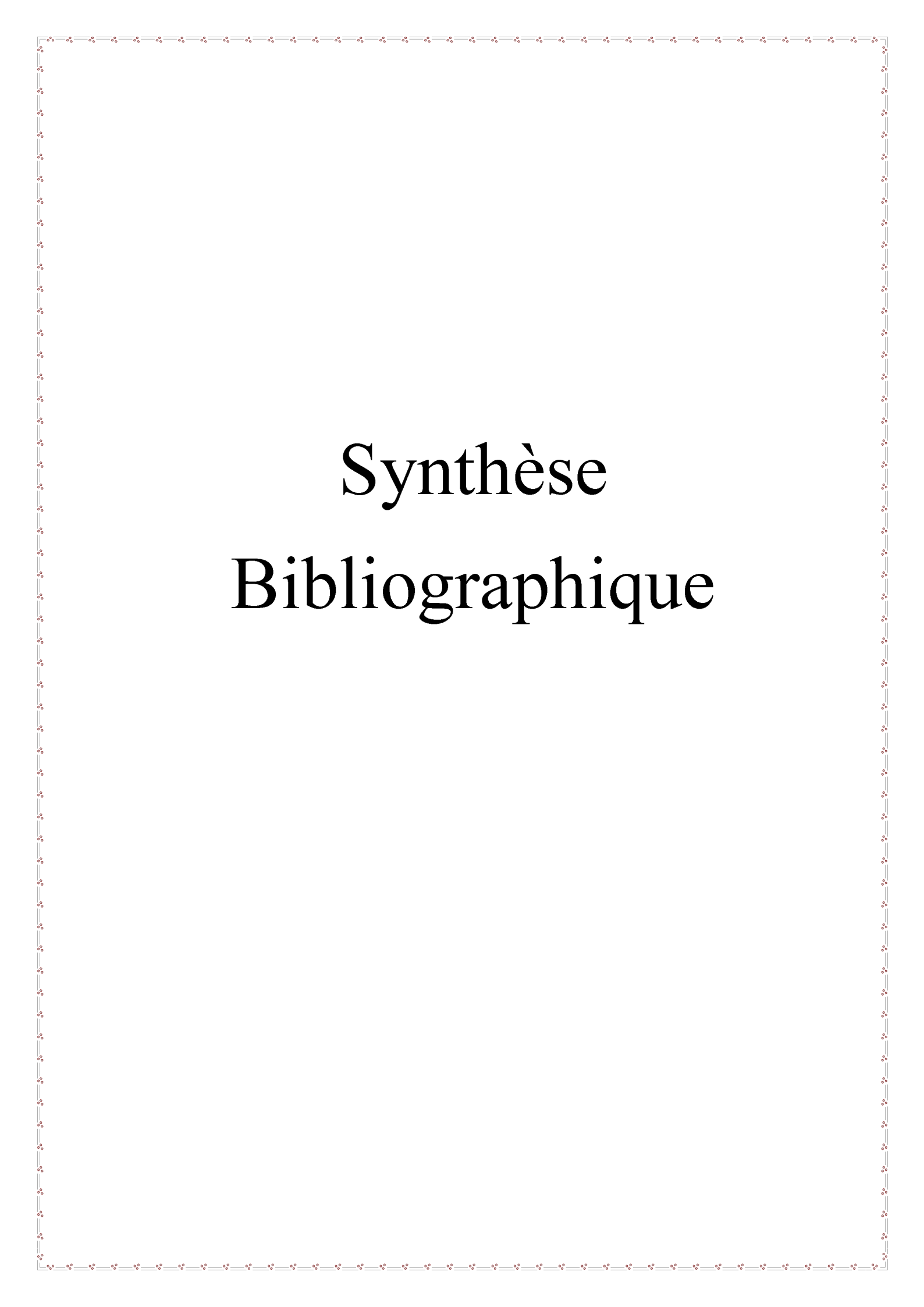
Vu les grandes quantités de boues résiduaires, celles-ci sont souvent rejetées sur un terrain au niveau du site la STEP de Reghaia engendrant la pollution du sol de celui-ci par les métaux lourds d'où le risque du transfert de ces derniers vers la nappe phréatique et les cours d'eau.

A cet effet, nous nous sommes proposé la possibilité de phytoremédiation par la mise en place d'un couvert végétal sur ce terrain pollué pour la diminution de la pollution en ETM. Cependant, vu les contraintes auxquelles nous avons été confronté pour la réalisation de notre expérimentation sur ce terrain, nous avons opté pour une étude en pots. Notre travail a pour objectif d'étudier la possibilité de réduire la contamination métallique du sol du site avoisinant la STEP de Reghaia par les méthodes biologiques notamment la phytoremédiation.

Ce présent mémoire se subdivise en deux parties à savoir :

Partie I : c'est la synthèse bibliographique sur les boues résiduaire, les métaux lourds, ainsi que sur les différentes techniques de décontamination des sols pollués.

Partie II : c'est la partie expérimentale qui se répartie en deux chapitres, le premier chapitre est consacré aux matériels et méthodes utilisées, les résultats et discussion dans le second chapitre. Cette partie est finalisée par une conclusion générale et quelques perspectives de recherches.



Synthèse

Bibliographique



Chapitre I

Généralités sur les boues Résiduaires

Les boues résiduaires sont des déchets issus du traitement des eaux usées. Dans ce chapitre nous décrivons en premier le processus d'épuration des eaux usées puis nous donnons des notions sur les boues résiduaires.

1. Traitement des eaux usées

L'objectif principal du traitement des eaux usées est de produire des effluents traités à un niveau approprié et acceptable du point de vue risque pour la santé humaine et l'environnement. Les stations d'épuration des eaux usées (STEP), indépendamment du type de traitement, réduisent la charge organique et les charges microbiennes (en particulier les microorganismes pathogènes), les solides en suspension et enlèvent les constituants chimiques des eaux usées qui peuvent être toxiques aux récoltes ainsi qu'à la santé publique en général (Ati, 2010).

Ce processus suit différentes étapes selon l'origine et la nature d'eau usée. On peut distinguer deux sortes d'eaux usées selon la nature de la pollution qui les affecte:

-Eaux usées provenant des concentrations industrielles dont la pollution est à dominance chimique.

-Eaux usées d'origine domestique (urbaines), représentent les déchets de la vie individuelle et collective des agglomérations dont la pollution est à dominance organique.

Le processus d'épuration des eaux usées comprend trois grandes étapes : le prétraitement, les traitements primaires et secondaires parfois suivis par un quatrième niveau de traitement, appelé traitement tertiaire.

1.1. Prétraitement

Après collecte et acheminement vers les stations d'épuration, la première étape de traitement consiste en un prétraitement visant à éliminer les éléments grossiers, par simples procédés de séparation physique. Ainsi on y retrouve trois étapes : Dégrillage ; Dessablage ; Dégraissage (Duchene, 1990).

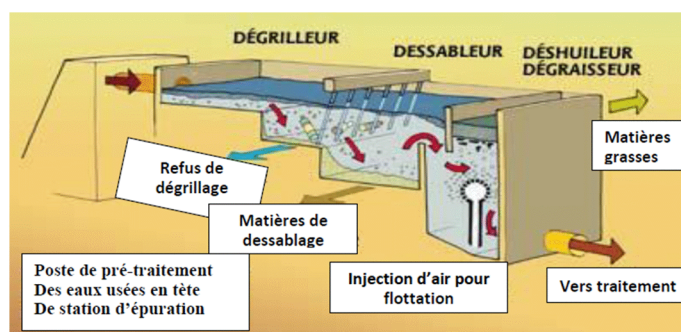


Figure 01 : Schéma du prétraitement dans une station d'épuration. (Amadou, 2007)

1. 2. Traitement primaire

Une fois ces étapes de dégrossissage réalisées, les eaux usées vont subir des procédés physiques ou physico-chimiques visant à éliminer, par décantation la charge de matière organique et minérale en suspension.

Une étape de coagulation-floculation préalable à la décantation permet d'améliorer l'épuration. Celle-ci est réalisée par l'adjonction d'un réactif (sels de fer ou d'aluminium) qui provoque l'agglomération des particules en suspension, provoquant ainsi leur chute au fond de l'ouvrage, 90% des matières en suspension peuvent alors être éliminées.

1.3. Traitement secondaire

Le traitement secondaire est un procédé d'épuration par les boues activées qui repose sur l'assimilation des bactéries de la matière organique en présence d'oxygène. La séparation biomasse (boues) de l'eau épurée se fait dans un second clarificateur. Une partie des boues éliminée sera alors réinjectée dans le bassin d'alimentation, l'autre partie étant acheminée vers les unités de traitement des boues.

La biomasse des boues activées est constituée de microorganismes hétérotrophes primaires ou prédateurs. Cette biomasse peut être libre c'est à dire en suspension plus ou moins agrégée en floes, dans un bassin d'aération (Adeline, 1997 *in* Guivarch, 2001).

Par ailleurs, il existe d'autres procédés d'épuration biologique des eaux, tels que les biofilms ou lit bactérien, qui sont des procédés à cultures fixées. Enfin, les eaux usées peuvent également être épurées par lagunage. Celles-ci sont dirigées dans des bassins étanches en plein air, dans lesquels l'autoépuration des eaux usées est réalisée par les organismes aquatiques (bactéries, algues, végétaux) qui se développent en équilibre avec le milieu (Anaëlle, 2009).

1.4. Traitement tertiaire

Le traitement tertiaire, qui n'est pas systématique, est une opération d'affinage de l'effluent avant réintroduction de l'eau épurée dans le milieu naturel.

- a) La réduction des matières en suspension et de la pollution organique Biodégradable se fait souvent par la filtration tertiaire
- b) La réduction de la pollution organique non biodégradable
- c) La réduction de la pollution phosphorée : Les techniques de déphosphatation qui sont généralement appliquées font appel à des réactions de précipitation (par les sels de fer et d'aluminium ou la chaux) ou à des micro-organismes épurateurs qui assurent une sur-élimination du phosphore (procédés biologiques).

d) L'élimination des germes pathogènes : La désinfection. Par : *le chlore* (eau de Javel) ; *le bioxyde de chlore* (ClO₂), *l'ozone* et *les rayons ultraviolets*.

L'élimination des pollutions apportées par les eaux usées laisse au passage des résidus. S'il y'a élimination, il y'a donc production de ces résidus constitués essentiellement produit d'un côté de l'eau épurée et de l'autre, des sous-produits que l'on appelle « boues ».

2. Les boues résiduaires des stations d'épuration

2.1. Définition des boues résiduaires

Les boues d'épurations sont le résultat de traitement des eaux usées, qui sont retrouvés à différents niveaux de filaire d'épuration des eaux usées (Bousselhaj, 1996).

2.2. Les différents types de boues

Il existe différents types de boues selon l'étape de traitement des eaux de laquelle elles sont issues. (Anaëlle, 2009)

2.2.1 Boues primaires

Ceux sont des dépôts qui proviennent du traitement primaire des eaux usées par décantation. Elles sont produites par les industries de la cellulose, les industries de traitement des métaux, des minerais, les industries agroalimentaires générant des déchets fibreux (Koller, 2004).

2.2.2. Boues physico-chimiques

Elles sont générées par l'ajout d'un réactif injecté soit au début de traitement, soit en traitement finale. On retrouve souvent dans ces boues des hydroxydes métalliques ou précipités minéraux (koller, 2004).

2.2.3. Les boues biologiques ou secondaires

Elles sont issues d'un bassin aéré ou d'une cuve anaérobie. Généralement issues de traitement des eaux usées provenant de toute industrie rejetant de la pollution organique biodégradable. Elles sont essentiellement constituées de bactéries et sont très organiques et peu concentrées (Murillo, 2004).

2.2.4. Les boues mixtes

C'est le mélange des boues biologiques et des boues primaires. Elles existent au niveau des STEP (station de traitement des eaux polluées) dotées d'une filière de traitement complète

2.2.5. Les boues d'aération prolongée

Ces boues existent au niveau des STEP sans décantation primaire. Elles sont moins organiques et donc produisent moins de nuisances ultérieures (ONA, 2004).

2.3.6. Composition des boues résiduaires

La composition des boues varie en fonction de l'origine des eaux usées, et le type de traitement et de conditionnement pratiqué dans la station d'épuration (Singh *et al.* 2004).

D'une façon générale, la matière solide de ces résidus contient à la fois des éléments naturels valorisables (matière organique, des éléments fertilisants tels que les métaux lourds), des composés toxiques (contamination chimiques inorganiques et organique) et une faune varie tel que les virus, les bactéries, les protozoaires et les champignons.

2.3.6.1. Éléments naturels valorisables

➤ Matière organique : sa teneur dans les boues donne une aptitude à la combustion non négligeable qui permet de les incinérer. (A.F.E.E, 1974), La matière organique représente plus de 50% de la matière sèche dans les boues.

➤ Les éléments fertilisants : il s'agit des teneurs en azote total, phosphore (exprimé en P_2O_5) potassium (exprimé en K_2O) et le Mg, qui sont utiles à la croissance des plantes, il s'agit des substances qui favorisent la croissance des plantes et donc qui ont une très grande importance pour l'utilisation agricole des boues, soit par épandage directe, soit par compostage avec les ordures ménagères, qui abondent dans la plus part des boues (Juste, 1979).

2.3.6.2. Les micros polluants**2.3.6.2.1. Les micros polluants organiques**

Ce sont des substances qui peuvent avoir une action néfaste pour le traitement des boues ou pour leur utilisation en agriculture. Il s'agit généralement des produits chimiques de synthèse qui sont utilisés dans la vie courante et qui se retrouvent dans les eaux usées domestiques. On trouve en particulier des teneurs importantes en détergents et des médicaments.

2.3.6.2.2. Les micropolluants minéraux

Il s'agit essentiellement de ce qu'on nomme *des métaux lourds*, qui ont été très largement étudié en laboratoire et sur le terrain pour leur rôle dans le développement des cultures irriguées par des boues liquides ou non. (Godin, 1982).

Certains de ces éléments se trouvent naturellement dans le sol comme le cuivre, le fer, le zinc... et sont indispensables à la croissance des plantes, alors que d'autres sont apportés par l'homme et peuvent avoir des conséquences fâcheuses. (Miller, 1995)

2.3.6.3. Les microorganismes pathogènes

Les eaux usées contiennent une flore et une faune variées qu'on retrouve une partie dans les boues (A.F.E.E, 1976). Les boues contiennent des milliards de micro-organismes vivants

qui jouent un rôle très important dans le processus d'épuration, seul une petite partie est pathogène (virus, bactérie, protozoaires, champignons...) (Adrian,2008) , provenant des eaux des abattoirs et industries traitants des produits d'animaux (Ecrin,2000).

2.4. Traitement des boues

Les boues résiduaires se présentent sous une forme colloïdale et avec une forte charge en matière organique hautement fermentescible. Ces deux caractéristiques sont gênantes et posent beaucoup de problèmes techniques pour l'élimination parmi lesquels leur transport et leur stockage qui conduisent souvent à des problèmes de manipulation et des nuisances olfactives. Ceci impose le choix d'une filière de traitement et généralement, le traitement des boues se fait en trois étapes distinguées : la réduction de la teneur en eau via l'épaississement et la déshydratation, la stabilisation.

2.4.1. La stabilisation des boues

Les boues d'épuration sont composées de matières organiques dégradables, de matières minérales et d'organismes pathogènes. Comme son nom l'indique, cette technique induit la stabilisation du caractère fermentescible des boues, en dégradant les matières organiques ou en bloquant les réactions. (Appels *et al* 2008).

➤ La stabilisation biologique

Stabilisation biologique réduit la teneur des boues en matières fermentescibles. Elle se fait:

- Soit par voie aérobie dans les bassins d'aération, jusqu'à l'obtention des boues à teneur non négligeable en oxygène et biologiquement stable. La consommation d'énergie de ce procédé ne permet pas d'envisager son utilisation de manière systématique pour les boues d'origine urbaines (Alandre, 1979).

- Soit par voie anaérobie (absence d'oxygène) dans des digesteurs avec production d'un biogaz riche en méthane et on obtient des boues « digérées », encore appelées « Anaérobies » ou « stabilisées anaérobies ».

➤ Stabilisation chimique

La stabilisation chimique bloque simplement l'activité biologique, et donc l'évolution de la boue. Elle se fait par adjonction d'une quantité importante de chaux élevant le pH au-delà de 12 (Koller, 2004), ayant pour effet de bloquer les fermentations en évitant ainsi le dégagement de mauvaise odeur. Ce traitement apporte un appoint en calcium qui peut être bénéfique, si la boue sera valorisée.

2.4.2. La déshydratation

La déshydratation (par centrifugation, filtre-presse, filtre à bandes presseuses, électro déshydratation...) libèrera une grande partie de l'eau constituant la plupart du volume des boues. Les boues sont ensuite (selon leur toxicité ou degré d'innocuité pour l'environnement) valorisées comme amendement, stockées ou incinérées.

2.4.3. Pasteurisation des boues

La pasteurisation consiste à chauffer les boues à une température de 70°C pendant un minimum de 30 minutes afin de les désinfecter. Elles ne sont pas stérilisées mais cela est suffisant pour la valorisation agricole et les virus sont éliminés par cette technique (Boutin, 1982).

2.5. Destination des boues traitées

Suites aux traitements des boues produites par les stations d'épuration (STEP), une destination régulière et fiable est souvent difficile à trouver. Parmi les solutions possibles on a : la valorisation agricole, la mise en décharge, l'incinération, ... etc.

2.5.1. La mise en décharge contrôlée

Cette solution reste préalable à une stabilisation de la boue et une déshydratation poussée. Elle consiste à enfouir les boues (des fois mélangées avec les ordures ménagères) dans un site étanche ou l'on compacte les résidus et on traite les jus de décharges (lixiviats).

2.5.2. L'incinération

L'incinération des boues doit permettre l'oxydation complète de leur fraction organique, à 800-900°C, en atmosphère oxydante (excès d'air) qui consiste à injecter les boues en pulvérisation dans un incinérateur en vue de les brûler pour être assimilé à de la valorisation, cela implique de récupérer l'énergie produite, néanmoins ce procédé peut être à l'origine de désagréments tel que le dégagement de nombreux polluants atmosphériques.

2.5.3. La méthanisation

Se fait par dégradation biologique en condition anaérobie des matières organiques qui produit du gaz carbonique et du méthane. Le méthane peut être valorisé par cogénération pour produire de l'électricité et de la chaleur.

2.5.4. Le compostage

Il consiste à mélanger les boues aux ordures ménagères se traduit par une hygiénisation ou destruction des germes pathogènes résultant de l'élévation de la température pouvant atteindre 80°C et par l'obtention d'un résidu riche en matière humifiable (Guy, 2003).

2.2.5. Valorisation agricole des boues d'épuration

C'est la meilleure solution vu la pouvoir fertilisant des boues. Néanmoins les boues doivent être dépourvues d'éléments indésirables (Métaux lourds, parasites, Germes...) et doivent subir au préalable un épaissement, une stabilisation et dans certains cas une déshydratation voire même un compostage.

En dehors de l'introduction de matière organique, substances humiques ou humifères, l'intérêt de l'utilisation des boues réside également dans l'apport de fertilisants, bien qu'elles soient assez pauvres en potasse. Il est à noter que le mode de traitement des eaux et des boues influera nettement sur l'ensemble de ces paramètres et que les teneurs en éléments fertilisants et en matières organiques sont extrêmement variables.

L'intérêt agronomique réside essentiellement dans les éléments suivants :

- Matière organique : bénéfique sur la structure du sol et sur son activité biologique.
- L'azote : sous forme organique, il est minéralisé par les micro-organismes du sol. Les boues contiennent 40 à 80 kg d'azote par tonne de matières sèches. On considère que 40% de cet azote pourra être assimilé par les plantes.
- Le phosphore : comme pour les engrais chimiques, les teneurs en phosphore sont exprimées en acide phosphorique (P_2O_5). Les boues contiennent 20 à 70 kg de P_2O_5 par tonne de matière sèche.
- Le calcium : utilisé pour l'entretien du sol. les quantités habituelles de calcium exprimées en CaO ne suffisent généralement pas pour corriger l'acidité des terres, sauf pour le cas des boues chaulées. Les boues contiennent de 20 à 80 kg de CaO par tonne de MS.
- Le potassium et le magnésium : très solubles dans l'eau, ils sont de ce fait peu présents dans les boues et devront être apportés par une fertilisation complémentaire.
- Les Oligo-éléments : indispensables à la croissance des végétaux, ils sont en quantités non négligeable dans la boue. Il s'agit essentiellement : Zinc, manganèse, le cuivre, le molybdène.

La valorisation agricole constitue un moyen d'élimination des boues relativement économique, et qui est généralement bien accepté par des organismes de gestion des déchets, car elle révèle d'une logique de recyclage de la matière et d'exploitation de leur pouvoir fertilisant.

Il est important de retenir que l'apport au champ de ces différents éléments ne doit excéder la quantité nécessaire aux besoins des plantes, l'excédent étant une source de pollution. La croissance de ces besoins nécessite un suivi agronomique à la parcelle.

La valorisation agricole des boues de la STEP, est l'un des axes de la politique environnementale de l'ONA et la meilleure solution vu le pouvoir fertilisant des boues.

En Algérie le recyclage agricole des boues restent au stade expérimental et fait l'objet de plusieurs travaux de recherche (Benmouffick, 1994). Elle a fait objet de réglementation (ONA ,2009)

- ❖ La loi N°2001-19 du 12 décembre 2004 relative à la gestion au contrôle et élimination des déchets.

- ❖ Décret Excutif 2006-104 de 26 février 2008 fixant le nomenclature des déchets. Et la contracte de la valorisation agricole des boues elle est liée à l'aspect réglementaire juridique qui doit définir :- Les normes de valorisation.

- Les modalités et la mise en œuvre de l'opération d'épandage.

2.2.6. Contraintes d'utilisations agricoles des boues

Les boues d'épuration ont des propriétés agronomiques utiles dans le domaine de l'agriculture. Néanmoins l'élimination des déchets par leur épandage sur les sols agricoles peut se heurter à plusieurs contraintes. En effet, l'épuration des eaux usées repose sur l'élimination des micropolluants organiques, minéraux et des germes pathogènes (bactéries, virus,). Dans les ouvrages de traitements des eaux usées, ces polluants se concentrent au niveau des sédiments qui constituent les boues résiduaires. La présence de ces micropolluants à certaines concentrations peut restreindre la valeur agronomique de ces boues.

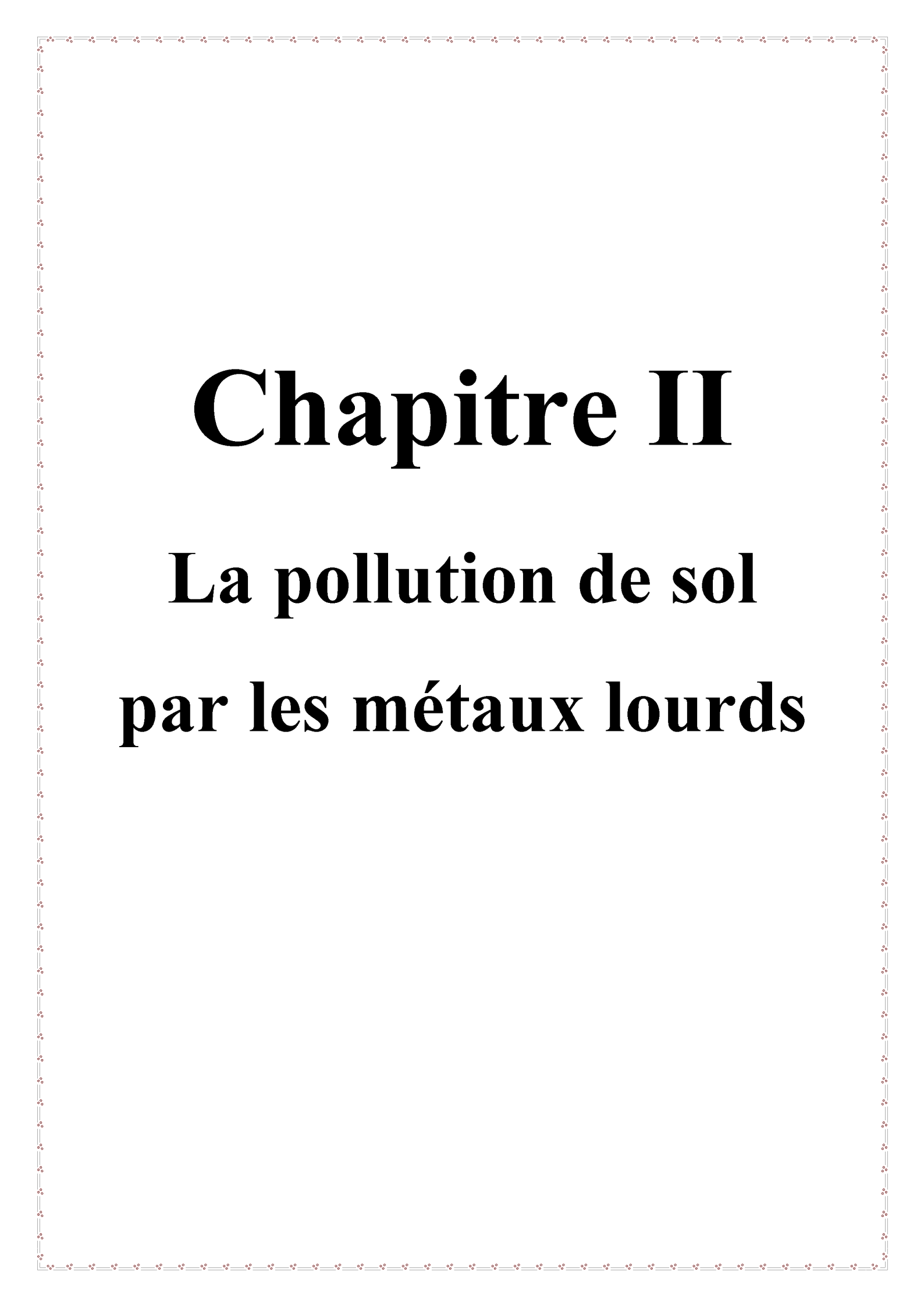
Leur utilisation doit tenir compte des besoins nutritionnels des plantes sans toutefois compromettre la qualité des sols ni celle des eaux superficielles et souterraines. En effet, certains métaux lourds présents dans les boues d'épuration peuvent être toxiques pour les plantes et pour l'homme.

L'utilisation des boues d'épuration est interdite lorsque la concentration d'un ou de plusieurs métaux lourds dans les sols dépasse les valeurs limites fixées (Voir tableau 01).

L'épandage des boues obéit à une réglementation qui impose le traitement pour assurer le traitement des boues (Nicourt et Barbier ,2009). Depuis 1985 plusieurs normes ont été établies pour l'épandage des boues, elle concerne les concentrations métalliques présents dans le sol.

Tableau 01 : Seuils en éléments traces métalliques et organique pour l'épandage des boues résiduaire sur un sol cultivé en France (Crrads *et al.*, 2009) et (Bowen, 1979).

Métaux	Valeurs limites dans les boues (mg/kg MS)	Valeurs limites dans les sols (mg/kg MS)
Cadmium	15	2
Chrome	1000	150
Cuivre	1000	100
Mercure	10	1
Plomb	800	100
Zinc	3000	300



Chapitre II

La pollution de sol par les métaux lourds

1. Définition de la pollution du sol

La pollution est une modification défavorable du milieu naturel pouvant affecter l'homme directement ou à travers des ressources agricoles, hydrique ou d'ordre biologique. (Ramade, 1978).

La notion de pollution du sol désigne toutes les formes de pollution touchant n'importe quel type de sol (agricole, forestier, urbain...), elle peut être diffuse ou locale. Les polluants du sol les plus courants et les plus recherchés sont : les métaux lourds.

La contamination des sols par les métaux lourds (plomb, cadmium, zinc, cuivre...) est le plus souvent imputable à l'action de l'homme. Leur origine est multiple: dépôts de déchets, engrais, boues résiduaire, lisiers, retombées atmosphériques, produits phytosanitaires. Les activités industrielles et urbaines ainsi que les transports peuvent localement être à l'origine de fortes concentrations. Ces pollutions agricoles peuvent avoir plusieurs impacts sur la santé humaine, en touchant des nappes phréatiques d'une part et en contaminant par bioaccumulation les plantes (Landa *et al* 2010).

2. Définition des éléments traces métalliques

Les éléments traces métalliques (ETM) sont les 80 éléments constituant de la croûte terrestre, dont la concentration est inférieure à 0,1%. On appelle métaux lourds tout élément métallique naturel dont la masse volumique dépasse 5g/cm³. En effet, ils s'accumulent dans les sols et peuvent être assimilés également par les plantes avec des effets toxiques au-delà des teneurs limites relativement basses (Suciu *et al.*, 2008).

Le tableau périodique des éléments compte 69 éléments répondant à l'appellation « métaux lourds » ou « ETM » (Figure N°02) La majorité des métaux lourds tels que le Zn, Cu, Mn, Co, Ni, Fe, Se sont essentiels à la vie sous forme d'oligoéléments, mais peuvent s'avérer toxiques à de fortes concentrations. D'autres métaux lourds tels que le Cd, Pb, Hg sont exclusivement toxiques car, même en faibles quantités, ils n'ont aucun rôle biologique connu sans intérêt pour les êtres vivants et souvent très toxique : le chrome et le cadmium (Ramade, 2005).

Bloc s												Bloc p					
H		<div style="display: inline-block; width: 15px; height: 15px; background-color: #cccccc; border: 1px solid black; margin-right: 5px;"></div> Métaux lourds de densité > 5															He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg	Bloc d										Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Bloc f														
Lanthanides			Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	
Transuraniens			Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Cf	Bk	Es	Fm	Md	No	Lr	

Figure 02: Classification périodique des éléments chimiques (Fourest E, 1993). (« Les métaux lourds » sont colorés).

3. Origine des métaux lourds

Les métaux lourds qui polluent le sol proviennent généralement des gisements miniers lourds. Ils sont présents de façon naturelle dans les sols. Ils proviennent en grande partie de l'altération de la roche mère du milieu.

Toutefois, les concentrations les plus importantes de métaux lourds dans les sols sont liées à l'activité humaine: stockage de déchets industrielle et urbains (mines et fonderies de métaux non ferreux, décharges publiques); pollution dues à des retombées atmosphérique (essence ou plomb, poussière des industries métallurgique, incinération des ordures ménagère...).

4. L'impact des métaux lourds sur l'environnement

4.1. Effet sur le sol

L'industrie minière provoque des répercussions néfastes sur l'environnement. En effet, le sol aux alentours des sites miniers devient contaminé par un cocktail de métaux – le plus souvent, Cd, Cu, Zn et Pb – et les usages des sols sont en conséquence restreints (Stengel et Gelin, 1998).

L'impact dévastateur sur les terres voisines peut rendre les ressources inutilisables pendant des générations, puisque le sol se contamine durablement et la concentration en ETM augmente avec les années surtout que les ETM sont susceptibles d'être relargués quand l'environnement est modifié (acidification du sol sous l'effet des changements de température, d'humidité, etc.).

4.2. Effet sur la végétation

La principale source de métaux pour les plantes se situe au niveau du sol, bien que leur assimilation suite à une déposition au niveau du feuillage puisse également se produire. Dans le sol, l'absorption d'un métal par les plantes est grandement influencée par certains facteurs comme le pH, le régime hydrique, la composition en argile et en matière organique, la capacité d'échange cationique et la présence d'autres éléments traces (Bélanger, 2009). Les mécanismes d'acquisition diffèrent selon les métaux et peuvent être passifs (Ni et Pb), mais préférentiellement actifs (Cu, Mo et Zn) ce qui procure à la plante un meilleur contrôle de son homéostasie (Bélanger, 2009).

Le rôle de ces éléments dans la vie des plantes est important car ils interviennent dans plusieurs réactions cellulaires ce sont des oligo-éléments bénéfiques à des faibles concentrations.

Les symptômes de toxicité associés aux métaux lourds dépendent de leur mobilité à l'interface sol-plante et à l'intérieur de la plante, mobilité qui détermine la concentration endogène du métal (Aoun, 2008).

Les effets des métaux lourds sur les plantes les plus habituels consistent en une :

- Réduction de la croissance des différentes parties de la plante ;
- Présence de chlorose due à une perte de chlorophylle, à une relative augmentation des caroténoïdes et à une déficience en fer ;
- Apparition des tâches nécrotiques ;
- Abaissement de la photosynthèse ;
- Inhibition ou stimulation de l'absorption des cations, causant des changements significatifs au niveau du métabolisme cellulaire (Aoun, 2008) ;

4.3. Effets sur les microorganismes

Le sol constitue le grand réservoir de la majorité des microorganismes, certains font partie de la microflore (bactéries, actinomycètes, champignons et algues) ; d'autres de la microfaune (protozoaire).

Il est généralement admis que les microorganismes sont plus sensibles aux métaux lourds que les plantes ou les animaux vivant dans les sols pollués (Giller *et al.*, 1998). Les impacts des métaux lourds sur les communautés microbiennes peuvent être abordés de diverses façons : la densité, la taille, la structure des communautés (génétique et fonctionnelle) et également l'activité enzymatique, mais l'interaction bactéries-métaux

lourds a été surtout étudiée dans les environnements extrêmes. La nature des interactions dépend du rôle biologique du métal dans la cellule. Certaines métaux lourds (Ni, CO, Zn, Fe) sont des cofacteurs indispensables de certaines protéines pour leur stabilisation ou leur conformation mais deviennent toxiques à haute concentration (Monch, 2007).

Des microorganismes sont capables de survivre dans des milieux contaminés par les métaux lourds à effet toxique, même à une forte exposition, (Mergeay *et al.*, 1985). Des mécanismes de résistance aux métaux lourds tels que la biominéralisation, la séquestration ou la conversion enzymatique différent des véritables résistances aux métaux lourds qui sont ex liés à la présence des gènes portés par des éléments génétiques mobiles. Tels que les plasmides, ceux-ci portent déterminassent de résistance qui assurent l'extrusion des métaux (Monchy S, 2007).

4.4. Impact sur la santé

Les métaux lourds présents dans l'environnement peuvent s'accumuler dans la chaîne alimentaire et créer des problèmes de santé publique.

Les métaux lourds causent divers effets néfastes sur la santé humaine en atteignant toutes les fonctions biologiques bien qu'il n'y ait pas de symptômes spécifiques et détectables face à une intoxication métallique. Parmi les maladies les plus graves dues à une intoxication métallique, le saturnisme correspond à une intoxication au Pb comprenant une plombémie supérieure à 100 µg L⁻¹ de Pb dans le sang qui entraîne des effets graves et irréversibles sur l'organisme notamment des retards mentaux chez l'enfant.

5. Les technologies de réhabilitation des sols contaminés par les ETM

Il est important d'élaborer des méthodes de gestion des environnements contaminés en métaux lourds afin de limiter la pollution engendrée car leurs accumulations et leurs transferts constituent un risque pour la santé humaine *via* la contamination de la chaîne alimentaire, mais aussi pour le milieu naturel dans son ensemble.

Il existe trois principales méthodes de dépollution :

- la **dépollution physique** telle que l'excavation, l'incinération, le traitement thermique (Mulligan *et al.*, 2001),
- la **dépollution chimique**, telle que la précipitation, la neutralisation, l'encapsulation, l'oxydation-réduction (Mulligan *et al.*, 2001),
- la **dépollution biologique** qui consiste à utiliser les microorganismes pour modifier la

spéciation des métaux (bioremédiation) (Carrasco *et al.*, 2005) ou à utiliser les plantes pour accumuler les métaux de milieux contaminés ou limiter leur mobilité (phytoREMÉDIATION) (Prasard *et al.*, 2010).

Certaines techniques engendrent des durées de traitement et des coûts plus importants que l'autre, mais tous sont efficaces en termes de la concentration en polluant de sol (Koller, 2004).

5.1. La bioremédiation

Les techniques de bioremédiation utilisent les propriétés dépolluantes de microorganismes (essentiellement des bactéries, mais aussi des champignons) endogènes ou exogènes au site contaminé (Vidali, 2001). La bioremédiation peut être appliquée in-situ. Ces techniques, relativement peu coûteuses, sont appréciées du grand public (McGrath *et al.*, 1995). Elles peuvent être subdivisées en plusieurs catégories selon le principe biologique ou mode de dépollution.

5.1.1. La biorestauration

Cette méthode consiste en l'ajout de nutriments (azote/phosphore) pour stimuler la croissance des micro-organismes indigènes et favoriser la dégradation des polluants organiques (hydrocarbures pétroliers, HAP) ou inorganiques (Hutchins *et al.*, 1991).

5.1.2. La bioaugmentation

Caractérisée par l'ajout de micro-organismes d'intérêt dans le sol, elle a pour but de stimuler la dégradation des polluants organiques et d'agir sur la spéciation des polluants inorganiques. Les micro-organismes employés peuvent être issus de sélections réalisées à partir d'échantillons environnementaux (sols, sédiments, boues...).

Ils sont ensuite cultivés en masse et inoculés dans leur environnement d'origine ou dans un autre environnement. Des micro-organismes génétiquement modifiés peuvent être utilisés à ce titre mais leur introduction dans l'environnement doit faire l'objet de contrôles poussés.

5.1.3. La biostimulation

Cette dernière a pour objectif d'accroître l'activité de la microflore indigène notamment en terme de croissance et de dégradation, par apport de nutriments (carbonés comme source d'énergie, minéraux) et/ou d'accepteurs finaux d'électrons (oxygène, nitrate, sulfate) afin de pallier la pauvreté en nutriments disponibles pour les micro-organismes. Pour cela, la croissance de la population prélevée sur le site contaminé est stimulée en laboratoire ou en bioréacteurs installés sur le site. Les micro-organismes sont par la suite réensemencés. La

gestion « à l'aveugle » de la microflore caractérise cette technique puisque les microorganismes bénéficiant de la stimulation ne sont pas forcément impliqués dans le traitement du ou des contaminants.

5.2. La phytoremédiation

5.2.1. Définition de la phytoremédiation

C'est utilisation des plantes et les microorganismes associés de la rhizosphère pour abaisser la concentration ou changer la biodisponibilité des produits chimiques toxiques situés dans les sols.

Cette technique exploite les propriétés de certaines espèces végétales (strates herbacées, plantes, arbustes, arbres, algues) à interagir avec des composés chimiques, organiques ou inorganiques, pour dépolluer in situ un terrain contaminé. Ainsi, les plantes absorbent, accumulent et détoxifient les contaminants du sol à travers des processus physiques, chimiques et biologiques (Prasad et *al.*, 2010).

On distingue quatre groupes de plantes en fonction de la teneur en ETM dans la plante rapportée à la teneur dans le sol (Baker, 1981).

- Les plantes « excluantes » ou « excluders » qui présentent une faible concentration foliaire, maintenue constante par régulation du transport depuis les racines tant que la concentration dans le sol reste relativement peu élevée. Elles limitent le passage des métaux, que ce soit au niveau de l'interface sol/racine ou au niveau du transfert racines/parties aériennes. Dans le cas contraire, le mécanisme de régulation est dépassé et une accumulation importante a lieu entraînant la mort de l'individu.

- Les plantes « indicatrices » qui ne présentent aucun contrôle de la translocation. Par conséquent, les concentrations racinaires et foliaires sont en équilibre, et proportionnelles aux teneurs du sol (Kuleff and Djingova, 1984).

- Les plantes « accumulatrices » capables de concentrer les métaux dans leurs tissus.

- Les plantes « hyperaccumulatrices » qui ont la capacité de tolérer des concentrations en métaux très élevées et qui ont une capacité d'accumuler plus de 1% de métal par rapport à leur matière sèche dans leurs parties aériennes (Baker and Brooks, 1989). [

5.2.2. Avantages et inconvénients de phytoremédiation

5.2.2.1. Avantages de la p phytoremédiation

La phytorestauration est une technologie de remédiation qui offre plusieurs avantages par rapport aux technologies de restaurations conventionnelles:

- c'est une technologie *in situ* plus économique et moins envahissante que les techniques de restaurations conventionnelles. Ce faible coût permet de traiter de grandes surfaces (elle génère des résidus riches en métaux recyclables et). L'énergie nécessaire pour faire fonctionner le système, provient de la lumière solaire, ce qui baisse donc le coût associé à la réalisation de cette technologie (Huang *et al.*, 2004).
- Les mécanismes de phytorestauration, à grande échelle, *in situ* ou *ex situ*, se caractérisent par une certaine facilité de mise en place, et ce, sans perturber l'environnement (Kumar *et al.*, 1995).

• Possibilité d'application sur une large gamme de contaminants: les contaminants organiques et inorganiques (un grand nombre des métaux toxiques et de radionucléides). En effet la phytoremédiation peut s'appliquer à une large gamme de métaux toxiques. En outre, pour un type de contaminant donné, comme les métaux, la sélectivité du végétal n'est pas stricte. Ainsi, certains *Thlaspi* venant de milieux calaminaires (riche en Zn, Pb, Cd) peuvent accumuler plus de 3% de Zn, 0,8% de Pb et 0,1% de Cd dans la matière sèche (Baker et Brooks, 1989). En outre, la décontamination par les plantes présente aussi l'avantage de réduire l'érosion et le lessivage des sites, ce qui maintient le polluant à proximité de la plante (Berti *et al.*, 1995) permettant ainsi de réduire la dispersion de la contamination ailleurs.

• L'objectif, à long terme, est d'obtenir un sol propre, de recréer un écosystème autonome qui pourra supporter une végétation pérenne et d'améliorer l'esthétique paysagère (Arienzo *et al.*, 2004).

5.2.2.2. Limites de phytoremédiation

La phytorestauration est une technologie lente qui peut prendre plusieurs années pour ramener les concentrations de contaminants à un niveau acceptable. De plus, la zone de décontamination ciblée par les plantes se limite à la rhizosphère. Donc, il est nécessaire de prévoir un projet de longue durée. Sans oublier aussi que le développement d'un couvert végétal dépend fortement des aléas climatiques (les saisons, sécheresse, inondation, etc.), des conditions du terrain (édaphiques) et des caractéristiques intrinsèques du substratum.

De plus, le risque que les contaminants puissent entrer dans la chaîne alimentaire par l'intermédiaire des animaux et insectes demeure présent. Par ailleurs, les sédiments dragués sont généralement de texture très hétérogène et sont sans structure, ce qui constitue un handicap pour la germination et le développement des racines. De surcroît, ils sont souvent très salins, déficients en éléments majeurs (N, P et K) et ont une faible CEC due à l'absence

de MO. Ainsi, les sédiments contaminés imposent des effets chimiques et physiques négatifs à la croissance de la plante qui ne sont normalement pas observés dans les sols arables. Ces paramètres, incluant en plus la toxicité élevée des sédiments, sont nocifs à la croissance des plantes, et conséquemment, ils affectent le bon déroulement de la décontamination.

5.2.2.3. Elimination des déchets de la phytoremédiation

Une des premières étapes est la réduction de volume par compostage ou par compaction (Kumar *et al.* 1995). Les deux traitements nécessitent toutefois de récupérer les lixiviats. La biomasse est ensuite traitée par différentes techniques, principalement par voie thermochimique (Ghosh et Singh 2005).

Le produit final peut être stocké, réutilisé en fonderie, ou subir une extraction liquide des métaux dans les cendres, cette dernière technique étant encore au stade expérimental.

5.2.3. Les différents modes de phytoremediation

5.2.3.2. La Rhizofiltration

Elle utilise les capacités élevées du système racinaire de certains végétaux pour fixer absorber, concentrer et précipiter les contaminants d'effluents pollués. C'est une technologie prometteuse pour éliminer les radionucléides et les métaux lourds de l'eau contaminée.

5.2.3.2. La phytostabilisation

Elle se définit par l'usage de la végétation pour contenir les contaminants du sol *in situ*, avec la modification des propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol. Cette technique de remédiation est particulièrement indiquée dans le cas de vastes zones contaminées caractérisée par une forte phytotoxicité du substrat et pour lesquelles la contamination est trop importante pour pouvoir être traitée dans un délai raisonnable par phytoextraction. (Bolan *et al.*, 2011)

5.2.3.3. La phytovolatilisation

Elle permet la transformation en produits volatiles puis le relargage dans l'atmosphère. Elle se base sur l'utilisation de plantes qui absorbent des contaminants toxiques tels que le mercure, le sélénium et l'arsenic, transformant ceux-ci en éléments volatiles peu ou pas toxiques et les relâchant dans l'atmosphère via leurs feuilles (McGrath, 1998). Ces composés relargués sont en général moins toxiques que les composés du sol absorbés par les racines de la plante.

5.2.3.4. Phytostimulation

Elle exploite l'effet stimulant de la rhizosphère sur la dégradation microbologique des contaminants. Cette stimulation microbienne dans la rhizosphère modifie la bioaccumulation, l'oxydation/réduction biologique et la biométhylation des ETM (Tak *et al.*, 2013) au niveau des racines (rhizosphère) notamment via l'augmentation de l'infiltration des eaux et à l'aération lors du développement du système racinaire (McGrath, 1998).

5.2.3.5. La phytoextraction

Il consiste au prélèvement par les plantes des métaux lourds dans la rhizosphère par via ses racines, leur transfert par translocation et leur accumulation dans ses parties aériennes qui seront ultérieurement récoltées (Kumar *et al.*, 1995). Les ETM se complexent avec des acides organiques ou avec des peptides tels que l'histidine synthétisés par la plante (Persans *et al.*, 1999).

Les récoltes périodiques de la biomasse végétale des plantes qui pousse sur les sols contaminés permettent la diminution des concentrations des polluants dans les sols. Une fois récoltées, les plantes peuvent être incinérées, et les cendres peuvent être destinées au recyclage en métallurgie ou au stockage (Blaylock et Huang, 2000).

La phyto-disponibilité des métaux au prélèvement, l'efficacité de la plante en terme de potentiel d'accumulation des métaux dans ses parties aériennes ainsi que le degré de tolérance de la plante aux concentrations toxiques de métaux (qui varie selon l'espèce végétale) sont des facteurs qui conditionnent l'efficacité de la phytoextraction (Ernst, 1996).

Cette méthode, se révèle efficace pour une grande variété d'ETM (Pb, Cd, Ni, Zn, ...). Cependant comme d'autres techniques de dépollution, la phytoextraction comporte des désavantages. En effet, la majorité des plantes hyperaccumulatrices présentent une faible production de biomasse et une vitesse de croissance lente demandant un investissement en temps assez important.

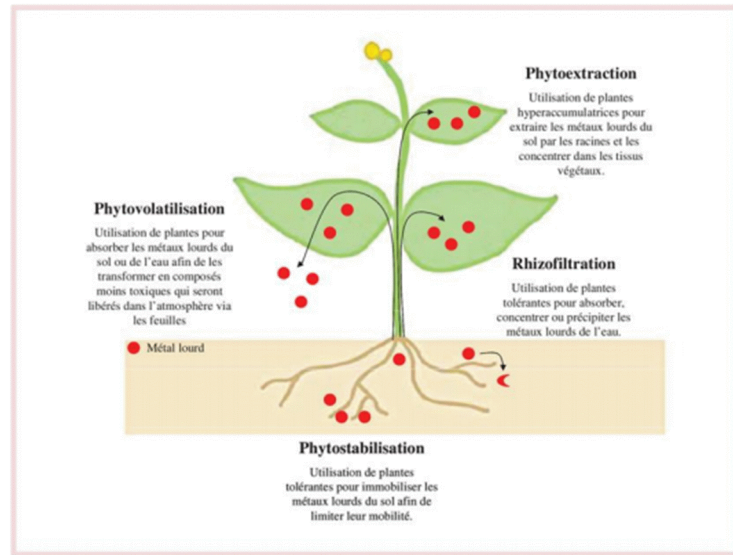


Figure 03 : Les différentes stratégies de phytoremédiation utilisées pour dépolluer les environnements contaminés en métaux lourds (Maynaud, 2012).

La réussite d'un traitement par phytoremédiation passe par la connaissance de la pollution à traiter et par une bonne sélection des espèces végétales capables d'éliminer cette pollution.

Ainsi le sol pollué a été analysé pour caractériser son aptitude à favoriser le développement des plantes à travers sa valeur agronomique et le niveau de pollution rencontré dans ce matériau.

Dans ce qui suit, nous décrivons le matériel utilisé pour les différentes expériences ainsi que les techniques d'analyses effectuées pour caractériser le sol ainsi que la méthode de phytoremédiation appliquée.

1. Matériels

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Sol pollué

Le sol pollué (SP) qui a fait l'objet de notre étude a été prélevé au niveau du terrain avoisinant la STEP de Réghaia ou il est rejeté en excès les boues résiduaire issues de traitement des eaux usées.

La station d'épuration (STEP) de Reghaia est située à environ 35 km au sud d'Alger, limitée Au Nord par le lac de Réghaia ; au sud par un terrain agricole et la route national RN24; A l'est par une zone d'habitation (Cité Djafer Chebcheb) et A l'ouest par une zone d'habitation (Cité H'raoua).



Figure 4 : Localisation de la station d'épurations de Reghaia.

La STEP de Reghaia a pour rôle principale le traitement des eaux usées urbaines et industrielles provenant des communes suivantes : Rouïba, Réghaia, Heuraoua, Bordj el kiffan, El marsa, Bordj el Bahri, Ain-taya. En plus, du traitement des eaux usée, la STEP de

Réghaia comporte une autre filière relative au traitement des boues résiduares issues de la première filière.

En bref le traitement des eaux usées passe par les étapes suivantes :

1. la collecte des eaux usées ;
2. le prétraitement (Dégrillage, Dessablage – dégraissage) ;
3. le traitement primaire (décantions primaire) ;
4. le traitement secondaire: traitement biologique (boue activée) et la clarification (Décanteur secondaire) ;
5. le traitement tertiaire (filtration sur sable).

La filière de traitement des boues résiduares vise deux principaux objectifs, la réduction de volume et la réduction du pouvoir fermentescible, elle consiste en :

1. l'épaississement (réduction de volume des boues) ;
2. la stabilisation chimique des boues (chaulage) ;
3. le stockage des boues (homogénéisation des deux types de boues);
4. la déshydratation des boues par centrifugation.

A partir du terrain avoisinant la STEP de Réghaia, nous avons fait des prélèvements du sol pollué (à une profondeur de 0 à 30cm) que l'on a conditionné dans des sacs en plastique et transporté à l'UMMTO. Ainsi au niveau de la faculté de biologie de l'UMMTO le sol pollué récupéré a été séché à l'air libre, broyé puis tamisé et enfin homogénéisé avant de le répartir en pots afin d'y planter les espèces végétales sélectionnées pour le test de phytoremédiation. Le sol pollué est formé principalement des boues résiduares.

1.1.2. Sol non pollué

Afin d'évaluer l'impact de la pollution sur la croissance des plantes nous avons réalisé des essais de culture de ces mêmes plantes sur sol non pollué provenant d'un site de l'université de Tizi-Ouzou.

1.1.3. Substrat

C'est un fertilisant NPK utilisé pour les essais de phytoremédiation du sol pollué.

1.1.4. Plantes

Le matériel végétal ayant fait l'objet de cette étude est composé de semences d'une variété locale de fève (*Vicia faba* L.) et de luzerne (*Medicago sativa* L.) couramment cultivée en Algérie.

Ces espèces sont connues comme résistantes à la pollution et accumulatrices des métaux lourds.

1.1.4.1. La luzerne (*Medicago sativa* L.)

Parmi les plantes utilisées en phytoremédiation, la luzerne (*Medicago sativa* L.) revête une importance particulière. Cette espèce elle a fait l'objet de plusieurs travaux de phytoremédiation pour plusieurs types de polluants: les métaux lourds comme Cd, Cr, Cu, Ni et Zn (sousou *et al.*, 2012 ; Bonfranceschi *et al.*, 2009), le pétrole (Kirk *et al.*, 2002), des Hydrocarbures aromatiques polycycliques HAP) (Fan *et al.*, 2008) ou composés organochlorés (Li *et al.*, 2013). De plus, des travaux récents ont montré des résultats prometteurs pour la Phytoremédiation de sols co-contaminés (Ding *et al.*, 2005).

C'est une espèce à croissance rapide qui développe un système extensif de racines favorables à l'établissement de micro-organismes de la rhizosphère (Kirk *et al.*, 2005) et peuvent s'associer à des bactéries symbiotiques fixant l'azote.

- **Classification botanique de la luzerne**

La luzerne (*Medicago sativa*), appelée parfois "grand trèfle" ou "Alfalfa", qui appartient à la famille des Légumineuse est une plante herbacée fourragère vivace de culture facile qui appartient à la famille des Fabacées (légumineuses) connue pour sa forte teneur en protéines (Melis *et al.*, 2017).

D'après Quezel et Santa (1962) *in* (Benlakhadar ,2015) classification botanique de la luzerne est comme suit :

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones.

Ordre : Rosale

Famille : Fabacées

Genre : *Medicago*

Espèce : *Medicagi sativa* L.

1.1.4.2. La fève (*Vicia faba* L.)

La fève est une plante potagère de la famille des papilionacées cultivée depuis la plus haute antiquité. La fève est cultivée sur tout le pourtour méditerranéen, elle constitue toujours une des bases de l'alimentation en Afrique du Nord et en Orient. Ce sont des plantes herbacées robustes, pouvant dépasser 1 mètre. Le fruit est une gousse contenant des graines de forme ovale et aplatie avec une peau épaisse (Belkhodja, 1996).

- **Classification botanique de la fève**

D'après Waiciechowski et al. (2004), cette classification est décrite comme suite :

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Rosidae*

Ordre : *Fabales*

Famille : *Fabaceae*

Genre : *Vicia*

Espèce : *Vicia faba* L.

2. METHODES

A partir du lot de sol pollué nous avons réalisé un prélèvement que nous avons passé aux différents tamis ceci afin d'éliminer le gravier et les débris de végétaux et d'animaux. La fraction fine récupérée (diamètre inférieure à 2mm) est stockée au réfrigérateur pour y effectuer des analyses ultérieurement.

2.1. Analyses physico –chimiques

2.1.1. Analyse granulométrique

La granulométrie a pour but de déterminer le pourcentage des différentes fractions de particules constituant les agrégats à savoir l'argile, le limon et le sable.

La granulométrie est déterminée par tamisage et sédimentation d'après la norme NFX 31-107 (Anonyme 01) : après l'élimination de la matière organique à l'aide de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 à 35 %), les particules de sol sont mises en suspension utilisant de l'hexametaphosphate de sodium ($(NaPO_3)_6$ à 150 g L^{-1}) en milieu ammoniacal. Ensuite, les sables grossiers ($200\text{ }\mu\text{m} < SG < 2\text{ mm}$) et sables fins ($50\text{ }\mu\text{m} < SF < 200\text{ }\mu\text{m}$) sont séparés par tamisage, tandis que les limons grossiers ($20\text{ }\mu\text{m} < LG < 50\text{ }\mu\text{m}$), les limons fins ($2\text{ }\mu\text{m} <$

LF < 20 µm) et les argiles (A < 2 µm) présents dans le filtrat sont mesurés pendant la sédimentation des particules dans une colonne d'eau (1 L) à partir des trois échantillons (25 ml) prélevés à l'aide de la pipette de Robinson. Finalement, la texture du sol est définie suivant le diagramme des textures d'après la proportion de sables, limons et argiles (Jamagne 1967).

2.1.2. Mesure de l'humidité

La teneur en eau est déterminée par gravimétrie en séchant un échantillon de sol (10g) à l'étuve (105 °C) jusqu'à atteindre le poids constant (NF X 31-102) (Anonyme 01).

Le taux de la teneur en eau de l'échantillon est exprimé selon la formule suivante :

$$H (\%) = (P 0 - P 1) / P 0$$

Avec :

P 0 : poids de la prise d'essai avant séchage (g) ;

P 1 : poids de la prise d'essai après séchage à 105°C (g) ;

H : taux de l'humidité (%).

2.1.3. Potentiel d'hydrogène (pH)

La détermination du pH à l'eau est d'intérêt car elle révèle l'acidité potentielle ou l'activité d'échange du sol (Bonneau et Souchier, 1994). Le pH des échantillons a été déterminé selon la norme AFNOR X 31-103 (Anonyme 02). Le sol est mis en suspension dans de l'eau distillée dans un rapport 2/5 (masse/volume) puis soumise à une agitation pendant 60 minutes à une température proche de 20°C. Après 2h de décantation, la lecture au pH-mètre de type INOLAB est faite après stabilisation.

2.1.4. Conductivité électrique

Le sol est mis en suspension dans de l'eau distillée dans un rapport 1/5 (masse/volume), afin de dissoudre les électrolytes. La conductivité électrique (CE) de l'extrait filtré est mesurée à l'aide d'un conductimètre de type PHYWE selon la norme (NF X 31-113) et exprimé en us/cm et le résultat est corrigé à une température de 25 °C (Anonyme 03).

2.1.5. Mesure de taux de carbone organique et le taux de la matière organique.

Le dosage se fait par la méthode de « ANNE », selon (Henin et *al.*, 1969), dont le principe repose sur l'oxydation du carbone organique en CO₂ par un mélange de bichromate de potassium et l'acide sulfurique à chaud ; l'excès de bichromate est titré à froid par une solution de sel de Mohr.

Nous avons introduit 2 g de sol (fraction fine) dans les ballons de 250 ml avec 10 ml de la solution de bichromate de potassium à 8% et 15 ml d'acide sulfurique concentré. Puis les ballons sont portés à ébullition douce pendant 5 mn.

Après refroidissement, la solution est transvasée dans une fiole de 250 ml et ajusté avec les eaux de rinçage. Une aliquote de 20 ml a été prélevée additionnée de 200ml d'eau distillée, d'une pincée de fluorure de sodium (NAF) et de 4 à 5 gouttes de diphenylamine.

Le bichromate en excès a été titré à froid à l'aide d'une solution réductrice de sel de Mohr.

Le dosage du témoin donne un volume du témoin (V_T) de solution réduite (sel de Mohr).

Le dosage de l'échantillon donne volume de l'essai (V_E) de solution réduite (sel de Mohr). La teneur en carbone organique pour 100g de sol est donnée par la formule suivante:

$$C = [(V_T - V_E) \cdot 0,615 \cdot 10 \cdot 100] / p$$

Avec : C: pourcentage de carbone organique (%).

V_T : volume du témoin (ml).

V_E : volume de l'essai (ml).

p: prise d'essai (g)

On admet que le carbone représente 58% de la matière organique totale. Le pourcentage de la matière organique peut être donc exprimé par la formule suivante :

$$MO = 1,72 \cdot C(\%)$$

Avec :

MO (%): pourcentage de la matière organique du sol ;

C (%) : pourcentage de carbone organique.

2.1.6. Dosage de la teneur en azote totale (NT) et en phosphore

2.1.6.1. Dosage de l'azote total

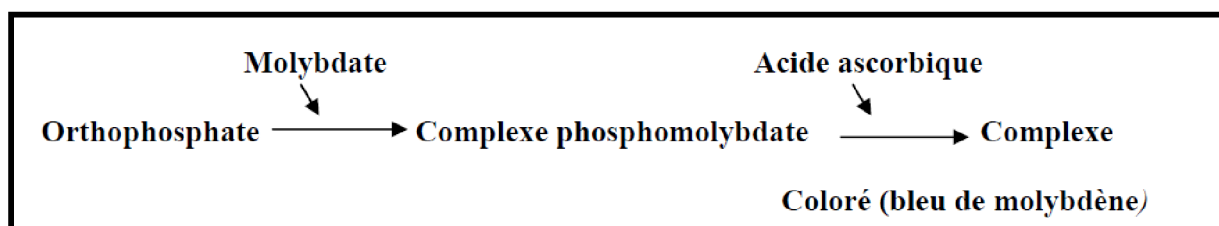
L'azote total du sol ou des boues est déterminé par la méthode de Kjeldahl. Modifiée décrite dans la norme NF X 31-111 (Anonyme 01).

Dans cette méthode, l'azote des composés organiques des échantillons est transformé à chaud en azote ammoniacal sous l'action d'acide sulfurique concentré, qui se comporte comme un oxydant et détruit les matières organiques. Pour accélérer cette transformation, on utilise un catalyseur refermant du sulfate de cuivre, de sulfate de potassium et de sélénium. Lorsque la matière organique est entièrement oxydée, la solution du sulfate d'ammonium obtenue est récupérée. L'ammoniaque est déplacée de sa combinaison par la soude, distillée grâce à l'appareil de distillation (VELP) et recueilli dans une solution d'acide borique. On titre celui-ci avec une solution d'acide sulfurique de normalité connue.

2.1.6.2. Dosage du phosphore

Le phosphore en solution se trouve sous forme de phosphates, la seule forme de phosphate pouvant être détectée est l'orthophosphate. Toutes les autres formes doivent subir un prétraitement afin d'être transformées en orthophosphate avant d'être analysées.

Le dosage de ce dernier nécessite une mise en œuvre d'une réaction colorée spécifique de l'élément recherché selon le schéma suivant (Norme NFT 90-032):



Le dosage s'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre (DR2000) à une longueur d'onde de 890 nm. L'intensité de la coloration sera proportionnelle à la concentration en phosphore.

2.1.7. Dosage des éléments traces métalliques dans le sol

Avant le dosage des métaux par l'absorption atomique, les échantillons doivent subir une série de manipulations qui permet la mise en solution totale d'ETM.

La méthode de solubilisation la plus utilisée est la minéralisation par attaque acide en milieu fermé. Celle-ci présente l'avantage d'éviter les pertes d'éléments volatils (mercure, arsenic, plomb ou cadmium).

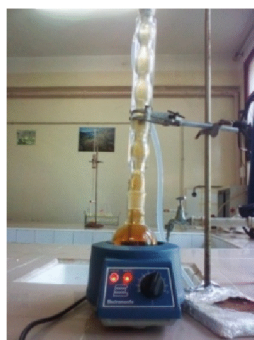
En premier, les échantillons de sol sont homogénéisés puis séchés à $105 \pm 5^\circ\text{C}$ selon la norme NF ISO 11465 d'août 1994, puis tamisés à 2 mm. Chaque échantillon a fait l'objet de trois dosages.

En se référant à la méthode adoptée par Keber (2012) l'extraction des ETM a été faite par une attaque à l'eau régale, soit un mélange d'acide chlorhydrique et d'acide nitrique [7,5 ml d'acide chlorhydrique à 37% (m/m) et 2,5 ml d'acide nitrique à 65% (m/m)].

Pour ce faire une prise d'essai du sol ($0,5 \pm 0,005$ g) est placée dans un Erlen-Meyer en verre ou elle reçoit 2 à 3 ml d'eau déminéralisée pour obtenir un produit bateau, auquel il est ajouté la solution d'acide.

Le mélange est laissé en contact pendant au moins 12h (une nuit) afin de permettre une oxydation lente de la matière organique du sol. Par la suite le minéralisat est concentré par ébullition pendant 2h par chauffage à 150°C pendant 60 min à l'aide d'un chauffe ballon connecté à un réfrigérant fermé (figure 6). Après refroidissement, le surnageant est filtré soigneusement dans une fiole jaugée de 250ml avec un papier filtre. Puis le résidu insoluble est lavé sur le papier filtre avec un minimum d'eau distillée et le volume obtenu est ajusté à 25 ml avec l'eau distillée (Lebougetal *et al.*, 1996)

Cette méthode est utilisée pour le dosage des éléments totaux et principalement pour le cuivre, le manganèse, le zinc, le fer, le chrome, le nickel, le plomb, le cadmium et le cobalt.



(a)



(b)

Figure 05: (a) Système de chauffe-ballon avec réfrigérant et (b) solution de l'extrait de minéralisation

La seconde étape consiste à doser les éléments en traces dans les extraits ainsi préparés avec l'eau régale, par spectrophotomètre d'absorption atomique S.A.A (Shimadzu AA-6200).

Le calcul de la teneur des ETM se fait selon la formule ci-dessous, afin que les résultats soient reportés au mg kg^{-1} de matière sèche ou ppm:

$$C = [T*(V/P)]*1000$$

Avec :

T= concentration de l'élément en mg/l déterminée par la courbe d'étalonnage ;

V : volume d'extraction en ml (25ml) ;

P : poids de la prise d'essai (0.5g) ;

C : résultat final exprimé en ppm (mg/kg de matière sèche).

Remarque: Afin d'éviter la contamination des échantillons analysés toutes la verrerie a été nettoyée avant chaque opération. A cet effet, celles-ci a été immergée dans une solution d'acide nitrique concentrée (0,5 mol/L) pendant 6 h puis rincée abondamment avec l'eau distillée.



Figure6: Spectromètre d'absorption atomique de marque «ANALYTIK JENA»

2.2. Dénombrement de la microflore totale du sol

Un dénombrement de la flore mésophile totale a été effectué dans le but de connaître l'impact de cette dernière sur la biodégradation des polluants.

En premier nous avons préparé une suspension de sol dans de l'eau physiologique (10g/100ml), après agitation et décantation une série de dilutions décimales variant de 10^1 à 10^9 a été effectuée (figure 08).

A partir de ces dilutions nous avons procédé à une culture :

-sur gélose LURIABERTANI (LB) (48h à 30°C) pour dénombrer la microflore bactérienne ;

-sur gélose SABOURAUD (3 à 5 jours à 25°C) Pour le dénombrement de la flore fongique.

Les colonies obtenues sont dénombrées à l'aide d'un compteur de colonies de type FUNKE GERBER. Selon Marchal et Bourdon (1982), le nombre de germes est déterminé en calculant la moyenne arithmétique des résultats obtenus et en tenant compte des facteurs de dilution, selon la formule :

$$N = (n / d) \cdot v$$

Avec:

N : Nombre des microorganismes en UFC/mL;

n : Nombre des colonies dénombrées ;

v : Volume prélevé (ml);

d : facteur de dilution.

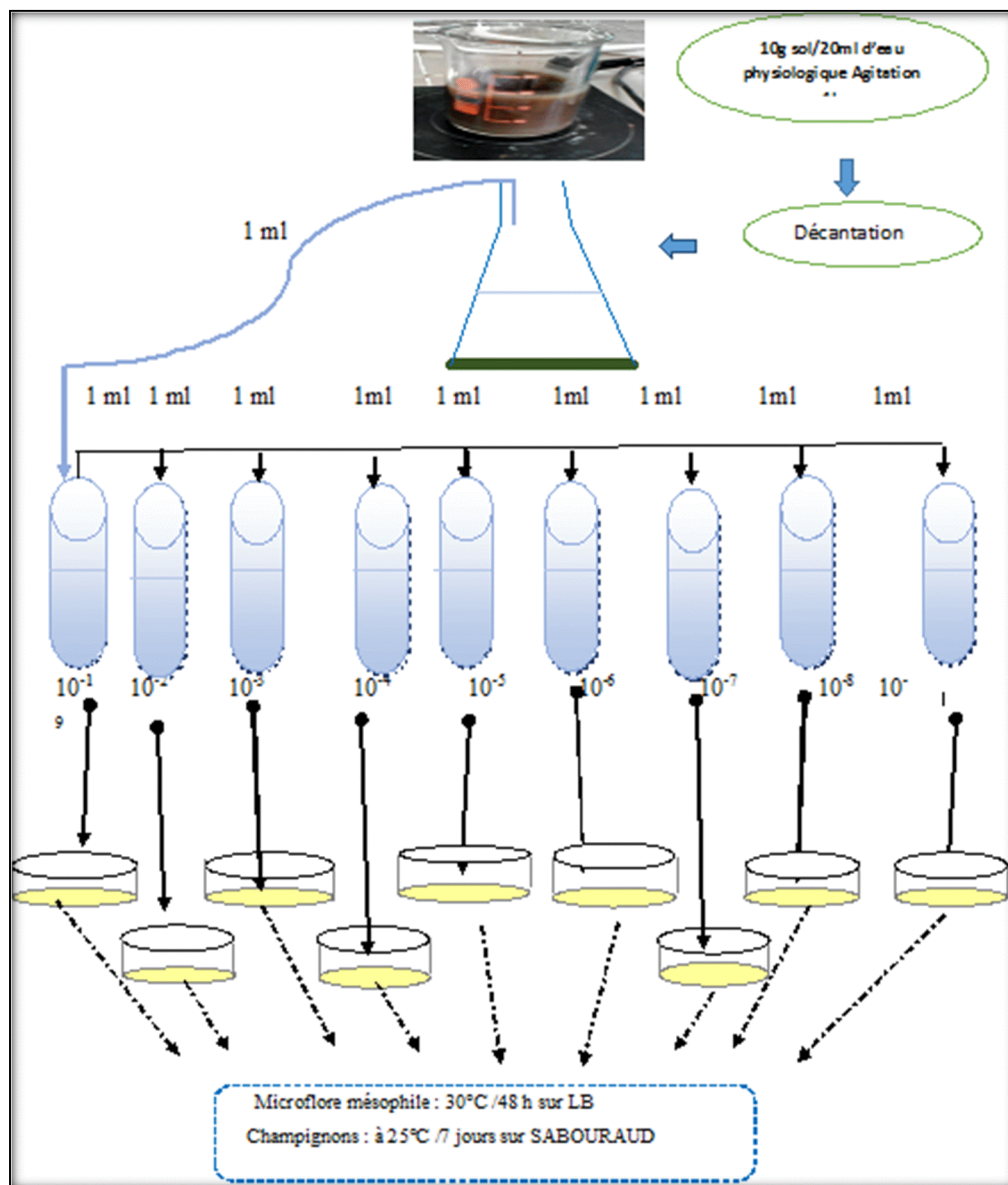


Figure 7 : Schéma du protocole du dénombrement de la microflore totale du sol.

2.3. Méthode de phytoremédiation

En premier, les semences des graines ont été triées à la main en fonction de leur bon état visuel puis elles ont été désinfectés en surface par immersion dans 2% (v / v) de peroxyde d'hydrogène pendant 8 min (Qu et *al.*, 2011). Ensuite, les graines ont été rincées à fond trois fois avec de l'eau stérile et utilisées pour l'expérience pot.

2.3.1. Tests de germination

Avant de réaliser les essais de phytoremédiation en pots nous avons réalisé des tests de germination sur différents échantillons de sol (sol non pollué, sol pollué avec ou sans amendement).

Le test de germination permet d'évaluer la capacité des espèces végétales à germer puis à croître sur les matériaux pollués.

Le taux de germination (TG%) est le rapport entre le nombre de graines germées sur le nombre de graines semées et évalués en pourcentage comme suit :

$$\text{TG (\%)} = (\text{nombre des graines germées} / \text{nombre total de graines semées}) * 100$$

2.3.2. La mise en place de l'essai de phytoremédiation

Le semis des trois espèces végétales sélectionnées a été réalisé en monoculture dans 500g de sol conditionné dans des pots en PVC, ayant une hauteur de 13 cm et dont les diamètres supérieurs et inférieurs sont respectivement de 13 cm et de 9 cm. Afin de laisser drainer l'eau en excès et éviter l'asphyxie des plantules, le fond des pots a été perforé, puis tapissé de gravier fin. La conception expérimentale comprenait les expériences:

1. Témoin sans culture (**T1**) : sol pollué non cultivé ;
2. Témoin avec Culture (**T2**) : culture sur un sol non pollué (**SNP**) ;
3. Traitement 1: culture dans un sol pollué (**SP**);
4. Traitement 2: culture dans un sol pollué amendé avec le fertilisant « a » (**SPa**).

L'emplacement des pots a été changé au hasard tous les jours et l'arrosage des cultures s'est fait selon le besoin.

L'expérimentation a duré 75 jours, à la fin chaque plante est déterrée et séparée du sol. Les échantillons de sol prélevés ont été maintenus à 4 ° C jusqu'à des analyses microbiologiques et chimiques plus poussées.

2.3.3. Suivi de la croissance des végétaux

Pour évaluer le développement et la résistance des plantes à la pollution métallique, un suivi régulier de la croissance des tiges de la plante, des feuilles ainsi que la mesure de la hauteur des racines et de la biomasse aérienne et racinaire en fin de culture des différentes plantes cultivées sur du sol pollué (avec et sans amendement) et sol non pollué (SNP).

2.3.3.1. Mesure de la hauteur de la tige des plantes et du nombre des feuillées

Après 75 jours du semis le nombre de feuilles a été dénombré, et la hauteur des tiges s'est faite à l'aide d'une règle graduée depuis le ras du sol jusqu'au dernier entrenœud présent sur la tige (Pyter *et al.*, 2010).

2.2.3.2. Mesure de l'élongation des racines**2.2.3.3. Mesure de la biomasse racinaire et aérienne.**

La biomasse de la partie aérienne et de la partie racinaire a été estimée à la fin de culture. Pour ce faire elles ont été séchées à l'étuve à 65°C puis pesées avec une balance de précision de 1/100

3. L'étude statistique

Dans le cadre de cette étude nous avons déterminé les paramètres morphologiques des trois espèces végétales dans les différents traitements de phytoremédiation.

Les données obtenues pour chaque paramètre, ont été interprétées statistiquement au moyen de l'analyse de la variance, en utilisant le logiciel « R ».

Cette méthode permet de comparer les moyennes des différents types de traitement et de chercher là où ces moyennes sont considérées comme étant égales, si au contraire, il y a une différence significative « valeur de Fisher théorique inférieure à la valeur de Fisher calculée ».

Le test de « NEWMAN et keuls » permet de compléter l'interprétation, et d'identifier les groupes de moyenne homo.

Dans ce chapitre nous présenterons d'abord les résultats relatifs aux analyses physico-chimiques et biologiques des échantillons de sol ainsi que le rendement des essais de la phytoremédiation

En absence de normes Algériennes relatives aux teneurs de références dans le sol, nous avons adopté une approche comparative par rapports aux références relevées dans la bibliographie et complétées par les normes européennes pour interpréter nos résultats.

1. Résultats des analyses des échantillons de sol

A vu d'œil le sol polluée de la station de Réghaia se caractérise par une couleur noir sombre et une odeur désagréable. Ceci serait dû à la présence de produits fermentescibles apportés par les boues résiduaires présentes en grande quantité dans ce sol.

1. 1. Granulométrie

L'analyse granulométrique de la fraction fine des échantillons de sol a dévoilé une différence dans la proportion des fractions constituantes les agrégats du sol.

D'après le triangle de texture (Jamagne ,1967), le sol pollué analysé présente une texture argileuse, avec un taux élevé en argiles et une teneur très faibles en sables et limons.

La texture du sol et sa structure peuvent modifier l'activité, le développement et la survie des microorganismes (Bonneau et Souchier, 1994). Dans le cas de texture argileuse elle est caractérisé par une grande capacité de rétention en eau et en éléments nutritifs (Lerau, 2006), d'où leurs disponibilité aux microorganismes du sol selon Dovet (1996).

D'après Stotzky et Rem (1967) dans le cas d'un sol argileux, la présence d'argile limite la respiration et la croissance des champignons mais favorise celles des bactéries .On peut dire que notre sol pollué est un support favorable à une activité microbienne ainsi qu'à la croissance des plantes.

Cependant nous pensons que la biodisponibilité des métaux lourds dans notre sol pollué pourrait être affectée par la présence d'une quantité importante d'argile car elle pourrait retenir un maximum de cations échangeables selon les travaux de l'ENITA (2000).

Pour le sol non pollué utilisé pour notre expérimentation appartient à la classe argilo sableuse.

1.2 L'Humidité

L'humidité est un paramètre important dans la croissance des microorganismes. Il est connu que les faibles humidités inférieures à 2% limitent la vitesse de biodégradation, inversement, des teneurs trop élevées vont influencer sur la perméabilité des sols aux gaz et

générer des conditions de limitations de transfert d'oxygène et donc l'arrêt du métabolisme microbien aérobie (Perraud, 2004 *in* Belmenai, 2015). Après l'opération de séchage à l'air du sol pollué celui-ci présente une humidité de 43,96% qui est favorable pour la culture des plantes.

1.3. Le potentiel d'hydrogène (pH)

Suite à la mesure du pH du sol non pollué (SNP), sol pollué (SP) et sol pollué amendé (SPa) par le substrat « a » il s'est avéré qu'ils sont neutres selon la classification de Soltner (1981). (Annexe 02)

D'après Kaouritchev *et al* (1980), ces échantillons de sol seront favorables à la culture des plantes. Benseghir (1996) note qu'en dehors des limites de pH : 5 et 8, les plants seront confrontés à des problèmes de nutrition minérale.

1.4. La Conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) des sols détermine leur degré de salinité. Selon Baize (2000), lorsque la concentration saline de la solution aqueuse d'un sol est trop élevée, les racines se développent mal et la croissance de la plante est ralentie, aboutissant même dans les cas graves, au dépérissement des plantes.

Les échantillons de sol polluée et sol non polluée ont présenté une conductivité électrique de 1.7 et 1.4 μ s/ μ mho les caractérisant comme étant des sols non salins d'après l'échelle de Durand (1983) (Annexe 03).

Ceci nous permet de conclure que la salinité ne sera pas une contrainte à la croissance des plantes tests dans nos essais de phytoremédiation.

1.5. Le taux du carbone organique totale et de matière organique

La matière organique du sol est importante pour la fertilité des sols et la bonne productivité à long terme. Elle intervient dans l'amélioration de la structure du sol afin de faciliter le développement racinaire des plantes.

D'après Baize (1988) (Annexe 04), notre échantillon de sol pollué est considéré comme sol riche vu qu'il renferme un taux élevé en carbone organique totale et en matière organique indiquant une abondance en éléments nutritifs. Pour le sol non pollué celui-ci présente des teneurs moyennes en carbone et en matière organique.

Selon Morel (1977), l'aptitude de sol à la minéralisation est en relation avec sa teneur en matière organique totale, plus elle sera riche plus sa minéralisation dans le sol sera intense.

D'après Singh *et al.* (1989), la matière organique joue un rôle important dans la mobilité et la disponibilité des métaux lourds dans le sol. Ce qui risque de les rendre inutilisables par les plantes d'après Hinesly *et al.*, (1976).

1.6. Eléments azotés et phosphorés

Nous rappelons que l'intérêt du dosage de l'azote et le phosphore est dû au fait que ceux sont des éléments nutritifs nécessaires au développement des plantes qui sont absorbés sous forme minérale.

Le phosphore est l'un des éléments majeurs indispensable à la croissance et au développement des végétaux. Il joue en particulier un rôle essentiel dans la mise en place du système racinaire, la photosynthèse et la reproduction du végétal (Elalaoui, 2007).

Dans le sol, la plus grande partie de l'azote (autre que celle provenant de l'engrais) est présente dans la matière organique. Cet azote devient disponible pour les végétaux par le processus de la minéralisation, par lequel la décomposition microbienne des matières organiques libère l'azote sous forme minérale.

L'azote est l'élément le plus déterminant de la valeur fertilisante des sols. L'insuffisance ou l'excès de l'azote peut affecter la croissance des plantes (un feuillage jaunissant, une végétation insuffisante, flétrissement nécrose racinaire, faible croissance...etc.).

Dans notre cas, le sol pollué et le sol non pollué renferme des teneurs appréciables de phosphore total d'après les normes Française (1974) selon Lacés (1985). Il est de même pour les teneurs en azote en se référant à Diehl (1975) (Annexe 06).

La richesse de notre sol pollué en ses éléments est due au fait qu'il soit constitué principalement des boues résiduelles de la STEP de Réghaia. Il est connu que les boues résiduelles sont généralement des fertilisants organiques libérant leurs éléments nutritifs (N, P, K) lentement d'après Grenier(1989).

1.7. Le rapport C/N

Le rapport C/N en agriculture renseigne sur la richesse en azote et sur l'activité biologique du milieu.

D'après Bonneau (1995), lorsque le rapport C/ N devient inférieur à 25, la libération d'ammonium et de nitrates l'emporte sur la consommation par les microorganismes transformateurs de l'azote libéré, et l'alimentation azotée des arbres devient possible.

Le rapport C/N du sol pollué ainsi que du sol non polluée est inférieur à 25 ce qui serait appréciable pour la culture de nos plantes.

1.8. La microflore totale du sol

Suite à l'analyse microbiologique du sol pollué étudié il s'avère qu'il présente une flore riche en bactéries et champignons. La biomasse bactérienne dépasse la teneur exigée pour microorganismes qui est supérieure ou égale à 10^6 germes/g de sol selon Battele et Nfesc (1996).

1.9. Teneur en ETM dans le sol pollué

Au regard des résultats obtenus relatifs au dosage des métaux lourds dans le sol pollué il s'est avéré que ce dernier renferme une variété de ces éléments à des doses différentes.

La majorité des éléments métalliques détectés dans le sol pollué sont présent à l'état de trace dont les teneurs sont largement inférieures aux valeurs admises pour le sol par les normes AFNOR (Bowen, 1979).

Cependant, il a été constaté la présence de certains métaux toxiques (Fe ; Zn ; Cr ; Cd) à des concentrations importantes dépassant les seuils admis par Baize, (2000). Ceci peut-être expliqué par la présence importante des boues résiduelles de la STEP de Réghaia.

La présence de ces contaminants dans le sol pose des problèmes de toxicité. En effet, Plusieurs études ont montré que l'éventuel transfert de ces ETM du sol, par les plantes via leurs racines risque de les introduire dans la chaîne alimentaire qui aura une incidence sur la santé humaine.

Il est donc nécessaire, de dépolluer le site de la STEP de Réghaia afin de préserver la santé des gens et leur environnement.

Notre sol pollué se caractérise par un pH optimal, une bonne teneur en matière organique et en éléments nutritifs (N et P), donc ce type de sol se prêterait potentiellement à la culture des plantes et la croissance de microorganismes ce qui serait donc favorable à l'application du procédé de phytoremédiation et de bioremédiation.

2. Résultats de la phytoremédiation

Dans ce qui suit nous essaierons d'analyser les résultats des essais de phytoremédiation du sol polluée à travers l'évaluation de certains paramètres morpho-physiologiques des plantes testées (taux de germination, la hauteur des plantes, la biomasse végétale...) ainsi que le rendement de réduction des métaux lourds avec ou sans ajout de substrat.

2.1. Test de germination

Avant de procéder aux essais de phytoremédiation, nous avons évalué la capacité des graines sélectionnées à germer dans les différents échantillons : sol non pollué (SNP), sol

pollué (**SP**) et sol pollué amendé (**SPa**). Sur la figure suivante il est illustré le taux de germination obtenu pour les espèces végétales testées.

En premier, nous rappelons que chez la plupart des auteurs, la germination est terminée lorsque la radicule émerge des téguments de la graine (Hopkins, 2003), et qu'il est considéré comme taux de germination satisfaisant qu'à partir de 80 % (Cemagref, 1983 et Hassnaoui, 1992).

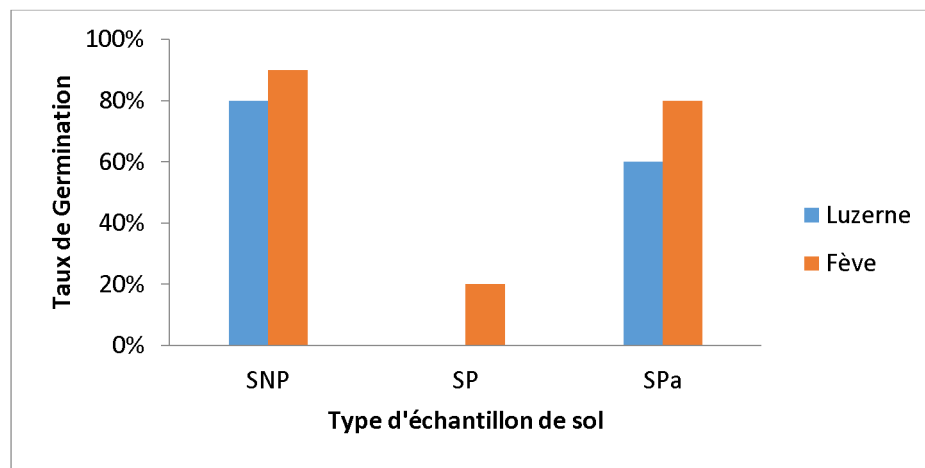


Figure 08 : Taux de germination des espèces végétales testées selon l'échantillon de sol (SNP : sol non pollué, SP: sol pollué, SPa : sol pollué amendé).

Après 15 jours de culture, nous avons constaté en premier que les graines des trois espèces végétales testées sur le sol non pollué ont un pouvoir germinatif satisfaisant (figure 09) ce qui confirme que ces graines sont de bonne qualité.

Cependant au niveau du sol pollué, ce taux de germination a connu une baisse importante, qui est d'environ 70% pour la fève, et de 100% pour la luzerne. Cet abaissement serait dû principalement à la présence d'une pollution par les métaux lourds vu que les graines utilisées sont de bonne qualité.

Nous notons aussi que la tolérance des espèces testées à la pollution métallique diffère, la luzerne est la plus affectée avec l'absence totale de germination. La difficulté des plantes à germer dans un sol pollué par les métaux lourds a été observée par d'autres auteurs.

Jain *et al* (2000) ont enregistré pour la canne à sucre, des réductions de 32 à 57% dans la germination des bourgeons en présence de 20 et 80 ppm de chrome.

L'amendement de sol pollué a permis d'avoir un taux de germination satisfaisant (80%) cependant pour la luzerne ce taux reste toujours insuffisant (moins de 80%).

A partir de là on peut conclure qu'il est possible de réaliser une phytoremédiation avec la fève sur du sol pollué et sol amendé, par contre pour la luzerne ça sera uniquement sur du sol pollué amendé.

Néanmoins il y a lieu de rappeler que la germination des graines en présence de la pollution ne peut garantir une bonne croissance de la plante et donc on ne peut prédire la réussite de la phytoremédiation.

En effet, il a été noté par de nombreux auteurs que la croissance de l'hypocotyle et de l'axe racinaire est plus sensible à l'action toxique des métaux et est souvent complètement inhibée par de faibles concentrations alors qu'ils ont peu d'effets sur la germination (Aydinalp et Marinova, 2009).

1.2. La hauteur de la tige

Les résultats relatifs à l'évolution de la moyenne de la hauteur de la tige des espèces dans les différents échantillons de sol sont représentés dans la figure 10.

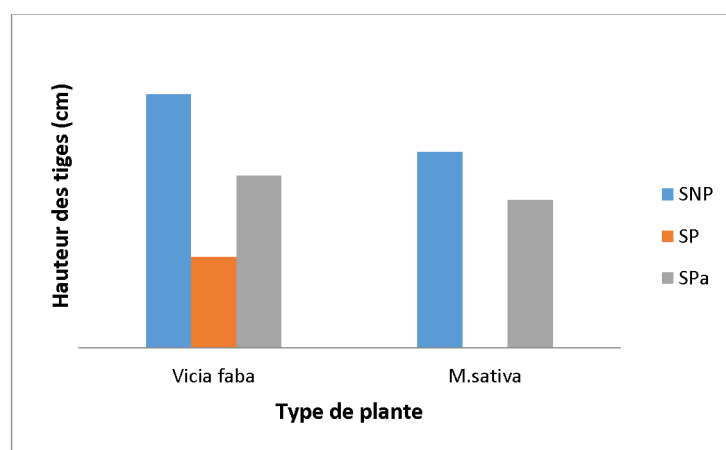


Figure 09 : Illustration de l'évolution de la hauteur moyenne des tiges chez les espèces végétales testées. (SNP : sol non pollué, SP: sol pollué, SPa: sol pollué amendé).

Comme prévu, la croissance maximale a été observée pour les cultures mises dans le sol non pollué par rapport à celles cultivées sur le sol pollué (SP) dont la baisse de croissance peut être attribuée à la présence de métaux toxiques.

L'ajout de substrat a permis d'améliorer la croissance des espèces végétales avec un taux d'augmentation plus importante pour la plante C (plus de 50%).

Pour la luzerne celle-ci n'a pu croître que dans le sol pollué amendé avec un taux de croissance plus faible que sur le sol non pollué.

L'inhibition de la croissance des plantes peut être considérée comme une réponse générale associée à la toxicité des métaux lourds. Rout *et al.*, (1997) ont apportés que le

chrome affecte la hauteur et la croissance des cultures d'avoine, de même pour des plantes de blé selon Sharma et al. (1993).

La réduction de la hauteur de la plante pourrait être principalement due à la réduction de la croissance des racines et de la perturbation du transport de l'eau et des nutriments vers les tiges de la plante.

Le test de l'ANOVA pour l'élongation de la tige dans les différents traitements révèle une différence très hautement significative pour le facteur sol ($P= 5.244 \times 10^{-12}$) et le facteur espèce ($P= 7.734 \times 10^{-14}$) ainsi qu'une différence significative pour l'interaction des deux facteurs ($P=1.570 \times 10^{-6}$).

Le test de Newman et Keuls concernant l'élongation de la tige des trois espèces pour le facteur sol a donné 3 groupes homogènes : un groupe dominant représente le sol non pollué (a) correspondant à la valeur la plus élevée de la hauteur moyenne suivi d'un deuxième groupe (b) représenté par le sol pollué amendé (SPa), vient ensuite un troisième groupe (c) représenté par le sol pollué représentant la valeur de la hauteur moyenne la plus faible.

2.3. La croissance foliaire des plantes

Nous nous sommes intéressés à ce paramètre relatif au développement et la croissance foliaire car d'une part, c'est un bon indice d'une bonne alimentation en eau et en sels minéraux ainsi que d'une production en biomasse par la plante (Duphuitate, 1996). Shanker *et al.* (2005) notent que ce paramètre détermine les taux de rendement des cultures.

La figure ci-dessous représente le nombre de feuilles obtenues des espèces végétales testées à la fin des essais de la phytoremédiation.

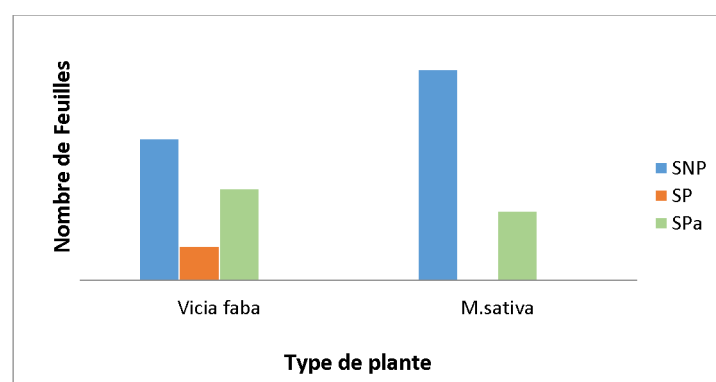


Figure 10 : Représentation du nombre de feuilles des trois plantes cultivées sur différents sols. (SNP : sol non pollué, SP: sol pollué, SPa : sol pollué amendé).

D'après la figure 12 nous constatons d'une part, une grande diminution du nombre de feuilles chez la fève cultivées sur le sol pollué par rapport aux cultures témoins.

D'autre part, il a été relevé que l'ajout de substrat a stimulé la croissance des feuilles chez les différentes plantes

Nous pouvons donc conclure que la pollution en métaux lourds aurait un impact négatif non seulement sur la hauteur des tiges mais aussi sur la croissance foliaire des différentes plantes mais l'ajout de substrat le réduit significativement.

La diminution du nombre de feuilles des plantes cultivées sur des sols pollués peut être expliquée par l'effet toxique des métaux lourds qui sont stockés dans ce dernier .Il a été observé que les ETM s'accumulent préférentiellement dans les tissus épidermiques et beaucoup moins dans les parenchymes, probablement pour préserver les cellules photosynthétique (Kupper *et al.*, 1999), provoquant des changements anatomiques, structuraux et ultra-structuraux importants au niveau des feuilles (Baryla *et al.*, 2001).

Concernant les la couleur des feuilles on a remarqué que celle-ci était moins intense (d'un vert plus clair) avec apparition du jaunissement de certaines feuilles.

Certains métaux tels que le cadmium peuvent avoir un impact non seulement sur le nombre de feuille mais aussi sur la teneur en chlorophylle qui diminue d'où l'apparition du phénomène de chlorose (Larsson *et al.*, 1998).

L'analyse de variance du nombre de feuilles des trois plantes dans les différent traitement a révélé qu'il y a une différence hautement significative pour le facteur sol ($p=6.216 \times 10^{-9}$), ce qui signifie que la qualité du sol a un grand rôle dans la production des feuilles. Aussi une différence significative pour le facteur plante ($p=0.0009088$) cela signifie que la production des feuilles est tributaire du type de plante, et il y a une différence significative pour l'interaction des deux facteurs ($p=1.688 \times 10^{-5}$).

Le teste de Newman Keuls (annexe 15) pour le nombre de feuilles des trois plantes pour le facteur sol a fait ressortir trois groupes homogènes. Le groupe(a) inclus le sol non polluée avec la moyenne la plus élevé de nombre de feuilles suivi du groupe (b) qui renferme le sol pollué amendé et en final le groupe c correspond au sol pollué avec la plus faible moyenne de feuilles.

D'après ces résultats on conclut que l'interaction des deux facteurs sol et plante a un effet sur le nombre de feuilles produit par les plantes, ainsi que chaque facteur seul à un effet seul sur le nombre de feuilles.

2.4. L'élongation racinaire

Les valeurs de la longueur des racines mesurée après la récolte des plantes sont illustrées dans la figure suivante.

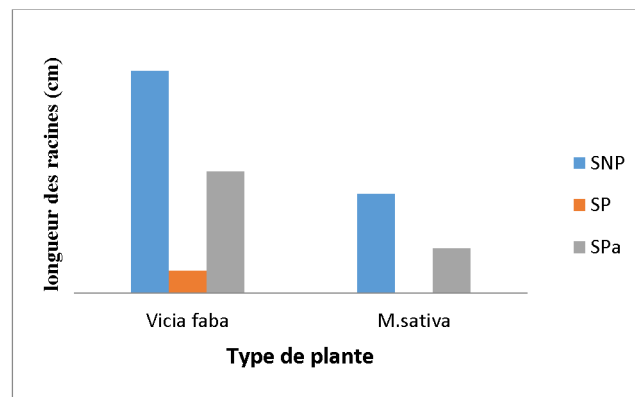


Figure 11 : L'évolution de l'élongation racinaire moyenne des espèces selon le type de traitement de sol. (SNP : sol non pollué, SP: sol pollué, SPa : sol pollué amendé)

D'après la figure 12, on remarque que l'élongation des racines sont moins développées chez les plantes cultivées dans le sol polluée que celles dans le sol non polluée. La baisse de la longueur des racines était pratiquement de la moitié.

Il est noté aussi que l'apport de substrat agit positivement sur la croissance des racines d'après cette même figure.

Pour la luzerne, l'ajout du substrat a permis d'avoir une croissance avec des racines atteignant environ la moitié par rapport à celle du témoin.

Nous en déduisons que la présence de la pollution métallique génère un impact négatif sur la longueur des racines des plantes testées avec un degré varié.

La plupart des métaux peuvent inhiber la germination et l'élongation racinaire lors des premiers stades de développement. Ils sont révélés être plus toxiques pour la croissance des racines, car ils s'accumulent au niveau de la racine notamment dans les vacuoles racinaires (Milnet et Kochian, 2008). La réduction de l'élongation racinaire peut être causée par une inhibition de la division cellulaire et de la synthèse des polysaccharides pariétaux (AOUN, 2009).

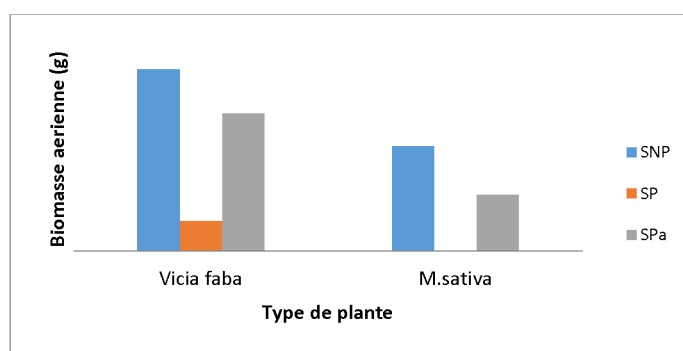
Dans les expériences de l'étude de l'impact du cadmium sur la fève menées par Souguir D. (2009) il a été observé que la racine primaire ainsi que les racines secondaires des plantules traitées par $CdCl_2$ montrent une réduction de leur croissance après 24 h du traitement.

L'analyse statistique, à l'aide du test de Kruskal Wallis à $p=5\%$, pour élongation racinaire révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre le traitement et les deux espèces avec ($P\text{-value}=1$).

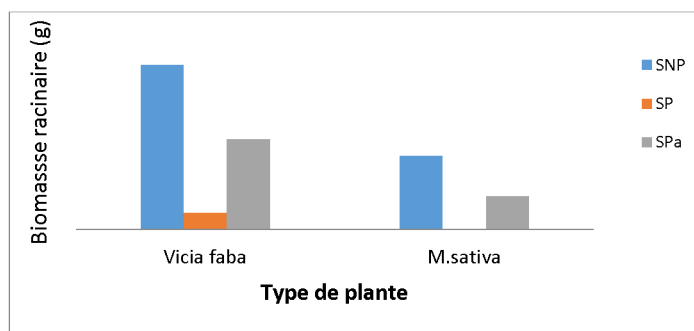
2.5. La biomasse sèche

La biomasse sèche peut être définie comme le reflet des réserves accumulées préalablement et résultant de l'activité photosynthétique (Maziliak, 1982).

La figure 13 met en évidence la répartition de la biomasse sèche aérienne et racinaire des plantes testées cultivées dans différents milieux de culture.



(a)



(b)

Figure 12 : Présentation des valeurs de la biomasse aérienne (a) et racinaire (b) des espèces végétales testées selon le milieu de culture. (SNP : sol non pollué, SP: sol pollué, SPa : sol pollué amendé).

En premier, nous constatons qu'il y a eu une forte baisse (de plus de 80%) de la biomasse aérienne et racinaire des cultures de la fève développées sur les échantillons de sol pollué par rapport à celles obtenues en absence de pollution.

En second, nous notons que la luzerne est la plus affectée par la pollution mais l'amendement a permis sa croissance avec une biomasse assez consistante par rapport à sa culture sur un sol non pollué.

Il a été aussi enregistré une forte hausse de la biomasse aérienne et racinaire de la fève par rapport à leur culture sur un sol pollué.

D'après la littérature, il a été déjà relevé l'effet négatif des métaux lourds sur la biomasse de différentes plantes. Les symptômes de la toxicité s'expriment différemment selon les éléments ; le cadmium induit une inhibition de la croissance de différentes parties des plantes. Ainsi, il produit une réduction de la biomasse des différents organes chez des plantes aussi variés que de tournesol (Groppa *et al.*, 2007) et la moutarde indienne (Haag-Kerwer *et al.*, 1999).

L'impact positif de l'ajout de substrat organique sur la biomasse des plantes cultivées en présence des ETM a été aussi noté par d'autres auteurs. En effet, les travaux de recherches de Gukert et Morel (1979) ont fait ressortir que l'amendement par des substrats organiques d'un sol pollué permet une augmentation significative des rendements de différentes cultures tels que le sorgho, le piment, la pomme de terre.

2.6. Evolution de la flore du sol

La figure 14 met en évidence l'évolution de la microflore bactérienne dans les différents milieux de culture (sol pollué et sol pollué amendé) à la fin de l'expérimentation.

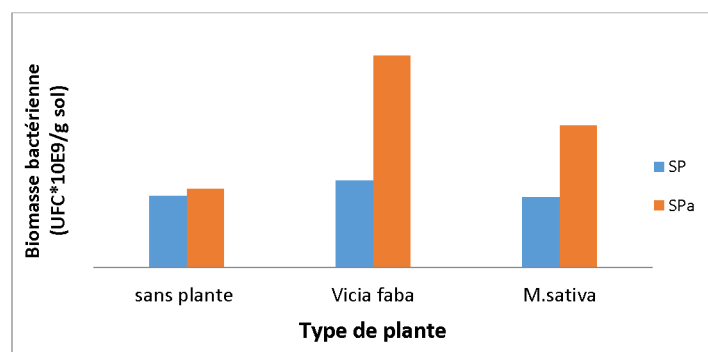


Figure 13 : Evolution de la flore microbienne dans les échantillons de sol en fin de culture. (SNP : sol non pollué, SP: sol pollué, SPa : sol pollué amendé).

L'analyse microbiologique de notre sol pollué a dévoilé la présence d'une flore microbienne non négligeable et ce malgré la présence de métaux lourds en teneurs assez élevées. Ceci serait dû au fait qu'il soit caractérisé par un pH, une salinité et une teneur en matière organique favorable à la prolifération des germes microbiens.

Lors du rajout du substrat à notre sol pollué en début de l'expérimentation, il a été constaté une très faible amélioration de la flore bactérienne. Ceci peut être dû à l'effet toxique des métaux lourds dans le sol pollué. Ekalund *et al.*, (2003) explique que la présence de

métaux lourds diminuerait la biomasse microbienne soit directement soit en inhibant certaines propriétés biochimiques du sol indispensables à leur survie.

Après la récolte des plantes, le dénombrement de la flore au niveau des différents échantillons de sol a montré une augmentation de celle-ci. Elle est plus importante au niveau du sol pollué amendé ou nous avons eu une croissance meilleure des plantes par rapport au sol pollué. Ceci peut être expliqué par un enrichissement en matière organique et microorganismes par l'apport de substrat.

Le test de Kruskal Wallis, biomasse bactérienne révèle qu'il n'y a pas une différence significative pour le facteur sol ($p= 0.036$).

Le teste de Newman Keuls biomasses bactérienne des traitements pour le facteur sol et plantes a fait ressortir trois groupes homogènes. Le groupe(a) inclus le sol pollué amande avec la moyenne la plus élevé suivi du groupe (b) qui renferme le sol pollué.

2.7. Résultats de rendement de la phytoremédiation

Après avoir étudié les caractéristiques des plantes cultivées sur les différents sols, nous analyserons dans ce qui suit les taux d'extraction obtenus de certains métaux toxiques afin d'évaluer l'efficacité des essais de phytoremédiation.

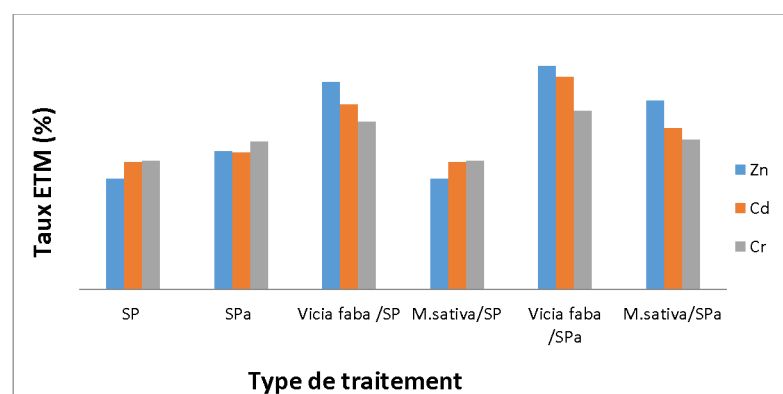


Figure 14 : Illustration de taux d'atténuation des métaux lourds dans le sol pollué (SP : sol pollué et SPa : sol pollué amendé) en fin de la culture.

En premier nous remarquons que le sol pollué non cultivé a présenté des taux d'extraction qui serait dû à l'activité biologique du fait de la présence d'une flore microbienne, mais qui sont inférieurs à ceux obtenus après le traitement du sol pollué. En effet, aux regards des résultats obtenus la fève a démontré un potentiel de phytoextraction des métaux lourds, qui peut être attribué à la présence d'une flore bactérienne plus importante et à la production considérable de biomasse.

Les essais de phytoremédiation avec la fève sur le sol pollué a permis d'avoir des rendements assez intéressants notamment pour le Zn et le Cd. De plus il est enregistré une amélioration de ces rendements avec l'apport de substrat. Une hausse de ses taux a été observée sur les échantillons de sol pollué amendé.

Conclusion

L'objectif de notre travail était d'étudier la possibilité de la réduction de la pollution métallique d'un sol sis au voisinage de la STEP de Réghaia par deux méthodes biologiques.

Afin de mener à bien nos travaux, nous avons réalisé en premier, la caractérisation physico-chimique et microbiologique du sol pollué. En second, nous avons mené des essais de phytoremediation par culture en pots de deux espèces végétales sur différents échantillons de sol pollué (avec et sans amendement) et de sol non pollué.

Au regard des résultats obtenus des analyses physico-chimiques et microbiologiques du sol pollué il en ressort que ce dernier se caractérise par une texture argileuse, une faible salinité, un pH neutre et une bonne humidité. De plus ce sol renferme une flore microbienne assez importante, une teneur assez élevée en matière organique, ainsi que des taux appréciables en phosphore et en azote. Ceci nous a permis de déduire que c'est un sol favorable à la croissance des plantes et des microorganismes.

Les mesures biométriques des plantes après 75 jours de culture, a montré que celles-ci présentaient des tolérances différentes à la pollution métallique. Dans l'ensemble, il a été observé que le développement végétatif des plantes testées a été très affecté, se traduisant par un taux faible de germination et une diminution des paramètres morphologiques (à savoir le nombre des feuilles, la longueur des tiges et racines ainsi que les biomasses sèches des parties aériennes et racinaires). L'apport de fertilisant au sol pollué a permis d'améliorer la tolérance de ces plantes se traduisant par une meilleure croissance.

Les effets négatifs de la pollution métallique observés sur nos plantes ont été déjà notés par d'autres auteurs ayant réalisés des études avec d'autres plantes.

Concernant les rendements d'extraction des taux des ETM dans le sol après la culture des plantes, il a été obtenu des taux différents (variant de 30 à 48%) selon l'espèce végétale. De plus nous avons remarqué que l'ajout de fertilisant au sol pollué a permis d'accroître ces rendements ce qui est intéressant. En perspectives nous recommandons:

- L'analyser la répartition des ETM au niveau des plantes testées.
- La réalisation d'autres essais de phytoremediation avec d'autres espèces végétales avec ou sans bioaugmentation de sol pollué (ajout de microorganismes tolérants aux métaux lourds).
- La culture de plantes au niveau du site pollué.

Références

Bibliographiques

-
- A.F.E.E. (1974). Assainissement industriel et stations d'épuration des eaux usées urbaines, Paris. 122p.
- A.F.E.E. (1976). La stabilisation non biologique des boues fraîches d'origine urbaine. Synthèse bibliographique, Paris. 119p.
- Abdelly, C. (2007). *Bioremédiation /Phytoremediation*. Thèse de doctorat du département des sciences naturelles, Institut supérieur de l'éducation et de la formation continue, Tunis. 32p.
- Abo-Amer and A. E. (2010). "Biodegradation of Diazinon by *Serratia marcescens* DI101 and its use in bioremediation of Contaminated Environment." *microbiology and biotechnology*: 71-80.
- Adiloglu A., 2002- The effect of zinc (Zn) application on uptake of cadmium (Cd) in
- Adrian. (2008). Service d'assainissement. Ed SULDGE, Paris, 8p.
- Alloway, B. J. (1995). Soil processes and the behaviour of heavy metals. In Alloway, B. J. (Ed.). *Heavy metals in soils*. Chapman & London: 24. pp11-35.
- Amadou, Haoua. (2007). Modélisation de séchage solaire sous serre des boues de station d'épuration Urbains. Thèse de doctorat Université Louis Pasteur- Strasbourg
- Anaëlle, Pony. (2009). Estimation de performances épuratoires : Caractérisation de boues de station d'épuration Curie mémoire Environnement, Ecologie Parcours Hydrologie-Hydrogéologie, Université Pierre et Marie : 10. pp6-16.
- Antonovics, J., Bradshaw A.D. & Turner R.G. (1971). Heavy metal tolerance in plants. In *Ecological Research*: 14. pp71-85.
- Aoun, M. (2008). Action du cadmium sur les plants de moutarde indienne [*Brassica juncea* (L.) Czern] néoformés à partir de couches cellulaires minces et issus de semis. Analyses physiologiques et rôle des polyamines. Thèse de doctorat de l'université de Bretagne occidentale - Brest, France.
- Appels, L., Baeyens, J., Degreè, J., Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science* : 34. 755–781
- ATI, Sabrina. (2010). Etude de l'effet des boues résiduelles sur sol cultivé : Dynamique du phosphore et son utilisation en zone semi – aride, mémoire de magistère en science
- Aydinalp, C. & Marinova, S. (2009). The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*). *Bulgar. J. Agric. Sci., Agric. Acad.* 15: 347-350.
- Baize, D. (1988). Guide des analyses courantes en pédologie I.N.R.A, France imprimé par Jouve, Paris. 172 p.
- Baize, D. (2000). Guide des analyses en pédologie, 2^{ème} édition revue et augmentée. Edition I.N.R.A, Paris, France.
- Baryla, A., Carrier, P., Franck F., Coulomb C., Sahut C. and Havaux M. (2001). Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta* : 212. pp 696-709.

Référence bibliographique

- Belanger, David. (2009). Utilisation de la faune macrobenthique comme bioindicateur en biologie incluant un cheminement de type cours en écologie internationale. Canada
- Belkhodja, M. (1996). Action de la salinité sur le comportement physiologique, métabolique, minérale et recherche de marqueurs moléculaires chez la fève (*Vicia faba* L.). Thèse de Doctorat en Es-science naturelle, 255P.
- Benseghir, L.A. (1996). Amélioration des techniques de production hors-sol du chène. 145p.
- Bensidhoum, L., Nabti, E., Tabli, N., Kupferschmied, P., Weiss, A., Rothballer, M.,
- Bonfranceschi, B.A., Flocco, C.G., Donati, E.R., 2009. Study of the heavy metal phytoextraction of two forage species growing in an hydroponic environment.
- Bonneau, M, Souchier, B. (1994). Pédologie. Constituants et propriétés des sols, deuxième édition, masson, Paris : p665.
- Bousselhaj, P. (1996). Etude du potentiel fertilisant (N et P) de deux boues de stations d'épuration par lagunage anaérobie et par boues activées.
- Boutin, P. (1982). Risques sanitaires provenant de l'utilisation d'eau polluée ou des boues de stations d'épuration en agriculture. T.S.M, n° 12 : 8. pp 547- 555
- Bowen, H., J., M. 1979. Environmental chemistry of the elements, Ed Academic Press, New York: 20. pp49-62.
- Brame. (1986). Les procédés physico-chimiques d'épuration des eaux usées urbaines. Série documents techniques A.F.E.E. France, 35 : 191-200.
- Brynhildsen, L., Lundgren, B.V., Allard, B. and Rosswall, T. (1988). Effects of glucose concentrations on cadmium, copper, mercury and zinc toxicity to a *Klebsiella* spp., Applied Environmental Microbiology, 54: pp 1689-1691.
- Carrasco, J.A., Armario, P., Pajuelo, E., Burgos, A., Caviades, M.A., López, R., Chamber, M.A., Palomares, A.J. (2005). Isolation and characterization of symbiotically effective *Rhizobium* resistant to arsenic and heavy metals after the toxic spill at the Aznalcóllar pyrite mine. Soil. Biol. and Biochem. 37 : 1131-1140.
- Cemagref., Hassnaoui. (1983). Régénération artificielle des chênes, note technique n°50.
- Chaouki I. 2001. Comportement et caractérisation de quelques populations sahariennes et variétés introduites de luzernes pérenne (*Medicago Sativa* L) dans la région d'Ouargla (cas de Hassi Ben Abdallah) Thèse, Ing, ITAS, Ouargla. 26p.
- Contaminated Soil by Alfalfa. Journal of Agro-environmental Science 24, pp766-770.
- Diehl, R. (1975). Agriculture générale 2ème édition. Ballière. 231p.
- Ding, K.Q., Luo, Y.M. (2005). Bioremediation of Copper and Benzo[a]pyrene- Journal of Hazardous Materials 165. pp 366-371.
- Dovet, P. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. Ed Elsevier, Amsterdam. 383p.
- Dragovic, S., Mihailovic, N., and Gajic, B. (2008). Heavy metals in soils: distribution, relationship with soil characteristics and radionuclides and multivariate assessment of contamination sources. *Chemosphere*: 72. pp491-495.
- Durand J.H. (1983). Les sols irrigables, Agence de coopération culturelle et technique. P.U. France. 190 p.
- Ekalund, F., Olsson, S. & Johansen, A. (2003). Changes in the succession and diversity of protozoan and microbial populations in soil spiked with a range of copper concentrations, J. Soil. Biol. Biochem : 35. pp1507-1516.

Référence bibliographique

- EL HASSANI M ET DAHMANI J., (1996) – Effet de certaines contraintes édaphiques sur la régénération artificielle du chêne-liège(*Quercus suber* L)/ Ann .rech. for. Maroc. T(29) :pp 151- 159.
- Elalaoui, A., (2007). Fertilisation minérale des cultures. Les éléments fertilisants majeurs (Azote, Potassium, Phosphore). *Bulletin mensuel d'information et de liaison du Pnta*.Tranfert de technologie en agriculture, 155p.
- ENITA (Ecole Nationale d'Ingénieurs de Travaux Agricoles Bordeaux). (2000). Agronomie aux nouvelles orientations. Edition Synthèse agricole.339p.
- Ernst, W.H.O. (1996). « Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by Plants». *Applied. Geochemistry*, 4:pp163-167.
- Fan, S., Li, P., Gong, Z., Ren, W., He, N.(2008). Promotion of pyrene degradation in rhizosphere of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Chemosphere* 71.pp 1593-1598.
- Farrell, Joseph, and Robert Gibbons. (1989). "Cheap Talk Can Matter in Bargaining," *Journal of Economic Theory*, June .48:1- 48.
- Fourest, E. (1993). Etude des mécanismes de biosorption des métaux lourds par des biomasses fongiques industrielles en vue d'un procédé d'épuration des effluents aqueux contaminés. Thèse Doc. Université. Joseph Fourier - Grenoble.
- Gabet, S. (2004). Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Thèse de doctorat de l'université de Limoges, spécialité Chimie et Microbiologie de l'Eau, p. 177.
- Gagnard G ; Huguet C ; Ryser J P., 1988- L'analyse du sol et du végétal dans la
- Giller K. E., Witter E., McGrath S. P. 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils. A review. *Soil Biology & Biochemistry*: 33. pp1389-1414.
- Godin, P. (1982). Sources de contamination et enjeux. Séminaire Eléments traces et pollution des sols, Paris. 3 p.
- Grenier, Y(1989). La valorisation des boues d'usine d'épuration des eaux pour la fertilisation des forêts. Thèse ing Canada, rech, forest, .189 p.
- Guerfi, Zouleikha. (2012). Impact de l'utilisation des boues résiduaire sur les propriétés physico-chimique des sols de la haute Vallée de la Medjerda wilaya de Souk Ahras, Mémoire Magistère en écologie et environnement, Université Badji-Mokhtar Annaba.
- Guivarch, A. (2001). Valeur fertilisante à court terme du phosphore des boues de stations d'épuration urbaines thèse de doctorat Institut National de la Recherche Agronomique – Bordeaux., France, pp309.
- Guker.et Morel. (179). billonde cima annees d'utilisation des boues résiduaire sur les plants de grands culture dans la condition agro-climatique.lorraines.Frist European symposium oftentement and use sowage studge, Edalexerdre : 14.pp 269-282.
- Guy, A. (1978). Méthodes d'analyses des sols. Edition CRDP (Marseille). 191 p.
- Haag-Kerwer, A., Schäfer H.J., Heiss S., Walter, Cand Rausch, T. (1999). Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. *J. Exp. Bot*: 50. pp1827-1835.
- Henin, S., Gras, R., Monnier. (1969). Le profil cultural, l'état physique du sol et ses conséquences agronomiques. Masson, Paris .332 p.

- Hopkins, W.G. (2003). Physiologie végétale. Université des Sciences et Technologie de Lille. Edition de boeck : 30.pp 99 – 120.
- Jain, R., Srivastava, S., Madan VK and Jain R. (2000). Influence of chromium on growth and cell division of sugarcane. Indiana J Plant Physiol:5.pp 228–31.
- Jamagne, M., Bétrémieux, R., Bégon J.C., Mori A. (1977). Quelques données sur la variabilité dans le milieu naturel de la réserve en eau des sols. Bulletin Technique d'Information : 15. pp 324-325, 627-641.
- Juste, G. (1979), Valorisation agricole des boues issues du traitement des eaux usées urbaines Ce bedeau. N° 432 :6. pp 461-467.
- Keber, Tahar. (2012). Etude de contamination, d'accumulation et de mobilité de quelques métaux lourds dans des légumes, des fruits et des sols agricoles situés près d'une décharge industrielle de l'usine al zinc de la ville de ghazaouet. UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID –TLEMCEN, Faculté des sciences Département de chimie. 257p
- Kirk, J.L., Klironomos, J.N., Lee, H., Trevors, J.T. (2002). Phytotoxicity Assay to Assess Plant Species for Phytoremediation of Petroleum-Contaminated Soil. Bioremediation Journal 6. pp 57-63.
- Kirk, J.L., Klironomos, J.N., Lee, H., Trevors, J.T. (2005). The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil. Environmental Pollution 133 .pp 455-465.
- Koller E. 2004. Traitement des pollutions .Duodi, Paris ,468p.
- Kormanik, R. A. (1977). Technologie transfer seminar on sludge handling and disposal.
- Kuleff, L. et Djingova, R. (1984). The dandelion (*Taraxacum officinale*) a monitor for environmental pollution? .Water Air Soil Pollut: 21. 77-85.
- Kupper, H., Kupper, F., Spiller, M. (1998) .In situ detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants. Photosynth Res 58: 125–133
- Lacés C .1985- Analyse des boues. AFEE, tome 1,135p, tome 2,127p.
- Landa. Edward R., Feller., Christian (EDS.).(2010). Soil and culture. 524 p.
- Larsson E.H., Bornman J.F. ET Asp H. (1998). Influence of UV-radiation and Cd²⁺ on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. J. Exp. Bot: 7. pp1031-1039
- Levitt, J (1980). Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York. Water, radiation, salt, and other stresses. Volume II.
- Li, Y.Y., Yang, H. (2013). Bioaccumulation and degradation of pentachloronitrobenzene in *Medicago sativa*. Journal of Environmental Management 119, 143-150.
- Loue, A. (1986). Les oligo-éléments en agriculture, Ed. Agr – Nathan Paris .336 p
- Mariano-da-Silva, S.; Basso, L.C. 2004. Efeitos do cádmio sobre o crescimento das Leveduras *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 E *Saccharomyces cerevisiae* IZ-1904, E a capacidade da vinhaça em atenuar a toxicidade. Ciência Tecnologia Alimento, :24(1), p. 16-22.
- Maynaud, G. (2012). Adaptation aux métaux lourds de populations de rhizobium impliquées dans la phytostabilisation de déblais miniers : Identification des mécanismes d'adaptation au Zn et au Cd, et structuration des populations de rhizobia adaptées aux sites miniers. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier II.
- Maziliak, P. (1982)- Physiologie végétale croissance et développement. vol. Ed.

Référence bibliographique

- McGrath S. P., Chaudri A. M., Giller K. E. 1995. Long-term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants. *Journal of Industrial Microbiology*: 14(1).pp. 94–104.
- Mergeay, M., D. Nies. (1985). "*Alcaligenes eutrophus* CH34 is a facultative chemolithotroph with plasmid-bound resistance to heavy metals." *J Bacteriol*: 6. 328-334.
- Miller, R.W., Azzari, A.S. Gardiner D.T. (1995). Heavy metals in crops as affected by soil types and sewage sludge rates. - *Commun., Soil Sci. Plant Anal*: 8.p.703-711.
- Monchy, S. (2007) .Organisation et expression des gènes de résistance aux métaux lourds chez *Cupriavidus metollidurans* CH34.thèse de doctorat : 20.p.13.33.
- Morel, J.L. (1977). Contribution à l'étude de l'évolution des boues résiduaires dans le sol. Thèse de Docteur Ingénieur, Université de Nancy 1, France, p : 117.
- Murillo M. (2004). Caractérisation de l'Effet d'un Traitement au Peroxyde d'Hydrogène sur une boue -Application la Réduction de la Production de Boue. Thèse de doctorat, INSA.
- Nicourt, C.etBarbier, R. (2009). boues des villes et boues des champs, le sol, dossier INRA : 2.p.118-119.
- O.N.A .2004 .Office nationale d'assainissement .Souk-Ahras.
- Pelmont, J. (2005). Biodégradation et métabolisme ,2ème édition : pp654-689.
- Persans, MW., Yan XG, Patnoe, J., Krämer U & Salt DE. (1999). Molecular dissection of the role of histidinein nickel hyperaccumulation in *Thlaspi goesingense* (Halacsy). *Plant Physiol*: 121.p.1117–1126.
- Prasad M.V., Hagemeyer J. Heavy metal stress in plants. From molecules to ecosystems. Springer. 401 p.
- Qiu, J.W., Qian, P.Y. and Wang, W.X. (2001). Contribution of dietary bacteria to metal accumulation in the slipper limpet. *Aquatic Microbial Ecology*: 25. pp 151-161.
- Ramade, F. (1993-2003). Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement, pp : 700.
- Ramade, F. (2005). Elément d'écologie, écologie appliquée. 6ème édition, Duodi, Paris.
- Rufus, L.C., Minnie, M., Yin, M.L., Sally, L.B., Eric, P.B., Scott-Angle, J., Alan, J.M.B. (1997). Phytoremediation of soil metals. *Cur. Opin. In Biotechnol*, 8: 279-284.
- Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar, N.P.B.A., Dushenkov, V., Ensley, B.D., Chet, I. &Raskin, I. (1995). Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology*, 13: 468-474.
- Sharma, N., Chandel, K. P. S., Paul A. (1993). In vitro propagation of *Gentiana kurroo*: an indigenous threatened plant of medicinal importance. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* : 34 .pp 307-309.
- Singh, N.K., Rai, U.N., Tewari, A.M. (2010). Metal Accumulation and Growth Response in *Vigna radiate* L. Inoculated with chromate Tolerant Rhizobacteria and Grown on TannerySludge Amended soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 84 : pp 118-414.
- Soltner, D. (2011). Les bases de la production végétale (éd. Tome I- le sol et son amélioration. .25eme Edition). Collection science et technique agricole, p 19-49 -.472.
- Souguir D. (2009) : Modifications métaboliques, moléculaires et génotoxicité induites par le cadmium chez *Vicia faba*. Thèse de doctorat, université CARTHAGE TUNISIE.

- Soussou S. , Banni M. , Serra-Wittling C. , Brunel B. , Mauré L. , Boussetta H. , Cleyet Marel J.C. (2012) .Tolérance de la luzerne *Medicago orbicularis* à la contamination métallique et influence des bactéries symbiotiques isolées de l'ancien site minier de Fej El Hdoum *Microbiol. Hyg. Alim.-Vol 24, N° 71*.
- Stotzky G. and Rem L. T. 1967. Influence of clay minerals on microorganisms. IV. Montmorillonite and kaolinite on fungi. *Canadian Journal of Microbiology*. 15 p.
- Tak, H.I., Ahmad, F, Babalola O.O. (2013). Advances in the Application of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Phytoremediation of Heavy Metals. *D.M. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol. 223.pp. 33-52.
- Truchet, G., Roche, P., Lerouge, P., Vasse, J., Camut, S., De Billy, F., Promé, J.-C., Dénarié, J.(1991). Sulphated lipo-oligosaccharide signals of *Rhizobium meliloti* elicit root nodule organogenesis in alfalfa. *Nature* 351, 670-673.
- Vidali, M (2001). Bioremediation. An overview. *Pure and Applied Chemistry* 73: 1163- 1172.
- Waiciechowski M. F., Lavin M., Sanderson M. I.(2004). Phylogeny of leguminous based on analysis of the plastid mat K gene resolves many well supported subclades with the family. *Am I* .pp.1846 1862.
- Weiqiang, L., Khan, M.A., Yamaguchi, S. & Kamiya, Y. (2005). Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regul.* 46:pp 45-50.

Anonyme

- Anonyme 01 : AFNOR. (1985).Norme Française NU44-041. Matières fertilisantes. Boues des ouvrages des eaux usées urbaines. Détermination et spécification.
-
- Anonyme 02 : AFNOR X 31-103. (1994). Qualité des sols. Environnement. Recueil des normes françaises qualité des sols.
- Anonyme 03 : AFNOR, 1999. Norme NF ISO 10390. In: AFNOR (Ed.). Recueil de normes, qualité des sols.



Annexes

Annexe 01 : Composition des principaux milieux de culture utilisés

❖ Eau physiologique stérile

Chlorure de sodium (Na Cl).....8.5g/l ;
Eau distillée 1l ;
pH=7 ;
Stérilisation à 120 °C/15mn.

❖ Gélose LURIA et BERTANI (LB)

Tryptone10g/l ;
Extrait de levure5g/l ;
Na Cl10g /l;
Agar.....15g/l;
L'eau distillée..... 1l.
pH : 7.5 ;
Stérilisation à 120 °C/15mn.

❖ Gélose SABOURAUD

Peptone pepsique de viande 10g/l.
Peptone enzymatique de caséine.10g/l
Glucose 35g/l
Agar agar 15g/l
L'eau distillée..... 1l .
pH: 5,7 ± 0,2.

Annexe 02 :Les classes des milieux selon leurs pH (Soltner,1981)

Extrêmement acides	Très fortement acides	Très acides	Acides	Faiblement acides	Neutres	Alcalins	Très alcalins
3 - 4,5	4,5 – 5	5 - 5,5	5,5 – 6	6- 6,75	6,75 – 7,25	7,25 – 8,5	8,5

Annexe 03 :Les classes des sols selon leur niveau de salinité (Durand,1983)

Non salé	Peu salé	Salé	Très salés
0 –0,6	0,6 –1,4	1,4 – 2,4	2,4 – 6

Annexe 04: Les types de sol selon leurs teneurs en matière organique (Baize, 1988).

la matière organique (%)	Type du sol
0.5	Très pauvre
0.5 - 1.5	Pauvre
1.5 - 2.5	Moyennement pauvre
2.5 - 6	Riche
6 - 15	Très riche

Tableau 05. Classification des sols selon leurs teneurs en phosphore et azote

- Phosphore (ministère de la coopération de la république Française ,1974).

Phosphore totale (‰)	
Terres pauvres	0.12
Terres moyennes	0.12 à 0.30
Terres riches	>0.30

- Azote selon Diehl(1975)

Classe d'azote	Azote totale
Sol pauvre ou très pauvre	0.05 à0.05
Teneur normal	1 à1.5
Sol riche	2

RESUME

La pollution des sols par les métaux lourds est devenue une problématique en Algérie. Parmi les sources de cette pollution il y a les boues résiduaires issues des différentes stations d'épuration des eaux usées.

Souvent ces boues sont rejetées sans traitement au préalable ce qui pose le risque de la contamination du sol et la nappe phréatique, ainsi que leurs introduction dans la chaîne alimentaire (via les plantes) affectant ainsi la santé des êtres humains et des animaux.

Notre travail a consisté à réaliser des essais de phytoremédiation sur un sol pollué sis au voisinage de la STEP de Réghaia.

Il a été observé en premier l'effet négatif de la pollution métallique sur les deux plantes testées se traduisant par une croissance moindre. Néanmoins la culture de ces plantes a permis d'avoir des taux d'extraction appréciables qui ont été amélioré par l'ajout de substrat (30-48%).

En conclusion nous que les essais de phytoremédiation appliquées a permis d'avoir des rendements d'extraction des métaux lourds satisfaisants dans le cas de notre sol pollué.

Mots clés : Pollution de sol, métaux lourds, phytoremédiation.

ABSTRACT

Soil pollution by heavy metals has become a problem in Algeria. Sources of this pollution include waste sludge from different sewage treatment plants.

Often these sludge's are rejected without treatment beforehand which poses the risk of contamination of soil and groundwater, as well as their introduction into the food chain (by plants) thus affecting the health of humans and animals.

Our job was to carry out phytoremediation tests on polluted soil located in the vicinity of the Réghaia wastewater treatment plant.

It was first observed that the negative effect of metal pollution on the two tested plants resulted in less growth. Nevertheless the cultivation of these plants allowed to have appreciable extraction rates which were improved by the addition of fertilizer (30-48%).

In conclusion, the applied phytoremediation tests have yielded satisfactory heavy metal extraction yields in the case of our polluted soil.

Key words: Soil pollution, heavy metals, phytoremediation.