

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

De fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Ecologie Et Environnement

Option: Protection des écosystèmes

Thème

**Etude de l'efficacité de variétés de légumineuses dans
la décontamination d'un sol pollué aux carburants**

Travail réalisé par :

- **Lounes Yassemine**
- **Loutis Massila**

Devant le jury composé de :

M^{me} Landri.G

M.A.A, UMMTO Présidente.

M^{me} Ali Ahmed.S

M.A.A, UMMTO Promotrice.

M^{me} Chibane.G

M.A.A, UMMTO Examinatrice.

Année Universitaire 2021/2022

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le Bon Dieu, le Tout Puissant, pour nous avoir données la santé, le courage et la patience pour être ce que nous sommes aujourd'hui et pour mener à terme ce modeste travail ;

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice Mme ALI AHMED S. MAA au département de biologie à l'UMMTO pour ses précieuses orientations, son aide, ses conseils et son souci de réaliser ce travail de recherche.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury, à la Présidente Mme LANDRI G. MAA au département de biologie et à l'Examinatrice Mme CHIBANE G. MAA au département de biologie à l'UMMTO pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner ce travail.

Nous remercions également Mme SADOUDI D., Professeur au département de biologie et Directrice du laboratoire de recherche PSEMRVC pour nous avoir accordées l'accès au laboratoire pour y réaliser nos expériences ainsi que Mme ABROUS H., Ingénieur du laboratoire PSEMRVC pour son aide et son encouragement tout au long du travail.

Nous adressons aussi nos plus sincères remerciements à la responsable de notre spécialité "Protection des écosystèmes", Mme METNA, MCA à l'UMMTO.

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

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

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

À mon cher frère, Nassim

À mes chères sœurs, Nassima et Nabila

À mes petits neveux, Zakaria et Akram

Yasmine

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

A mon cher frère Simane

A mes chères sœurs, Dilia et Ahlame

Massila

Liste des figures

Figure 1 : Différents mécanismes de phytoremédiation	4
Figure 2 : Processus de Rhizofiltration de l'arsenic avec des fougères	5
Figure 3 : Processus de Phytodégradation.....	5
Figure 4 : Processus de Phytovolatilisation.....	6
Figure 5 : Représentation de Phytostabilisation.....	7
Figure 6 : Processus de Phytoextraction.....	8
Figure 7 : Dispositif expérimental de la culture.....	15
Figure 8 : Dispositif du test de germination.....	16
Figure 9 : Protocole de l'activité de catalase.....	17
Figure 10 : Protocole de mesure de la respiration microbienne.....	18
Figure 11 : Protocole du test de viabilité des vers de terre.....	18
Figure 12 : Protocole de l'extraction des hydrocarbures résiduels.....	19
Figure 13 : Taux de germination des graines de maïs.....	21
Figure 14 : Biomasse aérienne des différentes variétés.....	22
Figure 15 : Biomasse racinaire des différentes variétés.....	23
Figure 16 : Respiration microbienne dans le sol des différentes variétés.....	24
Figure 17 : Activité de catalase dans le sol des différentes variétés.....	25
Figure 18 : Biomasse des vers de terre dans le sol des différentes variétés.....	26
Figure 19 : Taux de mortalité des vers de terre dans le sol des différentes variétés.....	27
Figure 20 : Quantité des hydrocarbures dans le sol des différentes variétés.....	27

Liste des tableaux

Tableau 01: Les principaux essais de phytoremédiation réalisés à l'UMMTO.....	9
Tableau 02 : Test de Newman et Keuls pour le taux de germination du maïs.....	10
Tableau 03 : Test de Newman et Keuls pour la biomasse aérienne des différentes variétés.....	22
Tableau 04 : Test de Newman et Keuls pour la biomasse racinaire des différentes variétés.....	23
Tableau 05 : Test de Newman et Keuls pour la respiration microbienne.....	25
Tableau 06 : Test de Newman et Keuls pour l'activité de catalase.....	26

SOMMAIRE

Sommaire

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Généralités.....	03
2. Les mécanismes de phytoremédiation.....	04
2.1. Phytostimulation ou rhizodégradation.....	04
2.2. Phytodégradation.....	05
2.3. Phytovolatilisation.....	06
2.4. Phytostabilisation.....	06
2.5. Phytoextraction.....	08
3. Caractéristiques des espèces utilisées.....	08
4. Les travaux de la recherche sur la phytoremédiation en Algérie	10

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel.....	12
1.1. Matériel végétal	12
1.1.1 La fève.....	12
1.1.2.1. Aguadulce.....	12
1.1.2.2. Muchamiel.....	12
1.1.2.3. Reina Mora (Extra Précoce à Grain Violet).....	13
1.1.2. Le haricot.....	13
1.1.2.1. Haricot nain mangetout (Contender).....	13
1.1.2.2. Haricot nain à écosser (Mina).....	13
1.1.2.3. Haricot nain fin vert (Oro).....	13
1.1.3. Le maïs.....	13
1.2. Le sol.....	14
1.3. Les vers de terre.....	14
2. Méthodes.....	14

2.1. Préparation du sol.....	14
2.2. Suivi des cultures.....	15
2.3. Evaluation de l'efficacité de la phytoremédiation.....	15
2.3.1. Test de germination des graines de maïs.....	15
2.3.2. Croissance des plantes.....	16
2.3.3. Mesure de l'activité biologique du sol	16
2.3.3.1. Activité enzymatique de la catalase (CAT).....	16
2.3.3.2. Respiration microbienne.....	17
2.3.4. Viabilité des vers de terre.....	18
2.3.5. Quantification des hydrocarbures dans le sol.....	19
2.4. Analyse statistique.....	19

Chapitres III : Résultats et discussion

1. Résultats.....	20
1.1. Taux de germination des graines de maïs.....	20
1.2. Biomasse aérienne.....	21
1.3. Biomasse racinaire.....	22
1.4. Respiration microbienne.....	23
1.5. Activité de la catalase.....	24
1.6. Biomasse des vers de terre.....	26
1.7. Mortalité des vers de terre.....	27
1.8. Quantité de hydrocarbures.....	27
2. Discussion.....	28

Conclusion	30
-------------------------	----

Références bibliographiques

Liste des annexes

Résumé

INTRODUCTION

Introduction

La pollution de l'environnement et des sols devient de plus en plus préoccupante. Divers polluants existent dans les sols, les plus courants sont les hydrocarbures (Adriano, 2001 ; Alkorta et al., 2004).

Les effets toxiques de la pollution par les carburants se traduisent par des altérations biologiques tant aux niveaux moléculaires que populationnels. L'augmentation de l'activité des microbes anaérobies suite à un déversement des hydrocarbures (gas-oil) augmente le stress pour les organismes vivants du sol tels que les vers de terre (Andreoin et al., 2004 ; Demuysère, 2011 ; Alrumman et al., 2015).

De plus, les hydrocarbures induisent l'inhibition du développement et du fonctionnement de certaines plantes, d'où le terme de « phytotoxicité » des hydrocarbures pouvant se manifester par une inhibition de la germination des graines et de la croissance des plantes. La dégradation des hydrocarbures entraîne l'immobilisation de l'azote contenu dans le sol, entraînant une croissance et un rendement réduits des plantes (Koller, 2004).

Les HAP agissent en pénétrant dans les plantes, en réduisant l'efficacité d'utilisation de l'eau et des nutriments et en inhibant l'activité photosynthétique et les chaînes de transport d'électrons (Calabresse et Blain, 2009). Plusieurs études ont montré que la présence de substances toxiques dans les milieux de croissance des plantes peut entraîner une diminution de la biomasse végétale (racines, tiges, etc.).

Afin d'éliminer ou de réduire cette pollution dans le sol, diverses techniques sont applicables. Les techniques physiques, chimiques et thermiques sont les plus fréquemment appliquées. Elles sont très efficaces pour certains types de contaminants mais présentent l'inconvénient d'être onéreuses et de détériorer le sol (Koller E, 2004).

Actuellement, les méthodes biologiques suscitent beaucoup d'intérêt car elles sont économiques, respectueuses de l'environnement et sauvegardent les propriétés du sol (Girard, 2005 ; Koller, 2009). Parmi ces techniques biologiques, la phytoremédiation est une technologie verte qui peut s'avérer comme une solution prometteuse au problème posé par la décontamination des sols pollués par les hydrocarbures. Elle consiste à utiliser la capacité des plantes tolérantes à éliminer et/ou atténuer la contamination des sols par les hydrocarbures (Shirdam et al., 2008).

Introduction

Plusieurs études sur la phytoremédiation des sols pollués par les hydrocarbures ont été réalisés à l'UMMTO (Ali Ahmed et Belkaid, 2006 ; Fezani et Khider, 2007 ; Kellas, 2008 ; Belkacem et Rouas, 2012 ; Alilouche et Toudouft, 2014 ; Bourkache et Boussanou, 2015 ; Larabi et Moussi, 2016 ; Belhocine , 2016 ; Diallo et Kaci, 2021). Ces travaux ont montré l'efficacité de plusieurs espèces végétales, notamment les Fabacées, à décontaminer les sols. Cette efficacité a été évaluée essentiellement par la mesure des paramètres physico-chimiques du sol.

Néanmoins, la différence d'efficacité des variétés au sein de la même espèce n'a pas été étudiée. De plus, l'utilisation d'essais biologiques est préférable si ceux-ci s'avèrent pertinents pour quantifier l'efficacité de la phytoremédiation.

C'est dans cette optique que s'inscrit la présente étude dont l'objectif principal est d'évaluer l'efficacité de différentes variétés de deux espèces de Fabacées (le haricot et la fève) dans la décontamination d'un sol pollué par les carburants. Ce travail vise aussi à étudier la pertinence des bio-essais dans l'évaluation de l'efficacité de la phytoremédiation.

Ce mémoire est subdivisé en trois chapitres. Le premier consiste en un aperçu bibliographique sur la phytoremédiation avec ses différents mécanismes et sur les espèces végétales les plus utilisées.

Le deuxième présente l'ensemble du matériel utilisé ainsi que les méthodes adoptées.

Dans le troisième seront exposés les résultats obtenus au cours de nos expériences et leur discussion.

Le document se termine par une conclusion.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

L'idée de Phytoremédiation est née au 19^{ème} siècle grâce à l'observation des chercheurs que certaines plantes et microorganismes pouvaient se développer spontanément dans des milieux fortement pollués (San Miguel, 2011). La phytoremédiation est essentiellement basée sur l'interaction entre les plantes, le sol et les microbes du sol. Soit les plantes absorbent les polluants pour les métaboliser les stocker, soit elles réduisent voire empêchent le rejet de polluants dans d'autres compartiments de l'environnement. Ces techniques ont été développées à partir de plantes qui poussent naturellement sur des sites contaminés.

1. Généralités :

Selon la définition énoncée par l'ADEME en 2006, la phytoremédiation est *"un procédé basé sur l'utilisation de la capacité de certains végétaux à se développer en milieux contaminés. En effet ces végétaux peuvent bloquer, extraire, accumuler, transformer ou détruire un polluant. Ce procédé peut s'appliquer au traitement des sols, des boues, des sédiments, des effluents liquides voire gazeux. Les polluants traités sont les métaux, les solvants, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les explosifs, les produits phytosanitaires..."*.

Simplement dit, la phytoremédiation est l'utilisation des plantes et des microorganismes qui leurs sont associés pour nettoyer l'environnement. C'est donc un ensemble de techniques in situ, misant sur les plantes pour extraire, dégrader ou immobiliser les contaminants dans les sols, ainsi que dans les eaux de surface ou souterraines et dans l'air. La phytoremédiation est aussi décrite comme une stratégie économique et efficace d'éco-remédiation fonctionnant à l'énergie solaire.

2. Les mécanismes de phytoremédiation :

Les études réalisées à ce jour permettent d'envisager cinq mécanismes différents de phytoremédiation (figure 1).

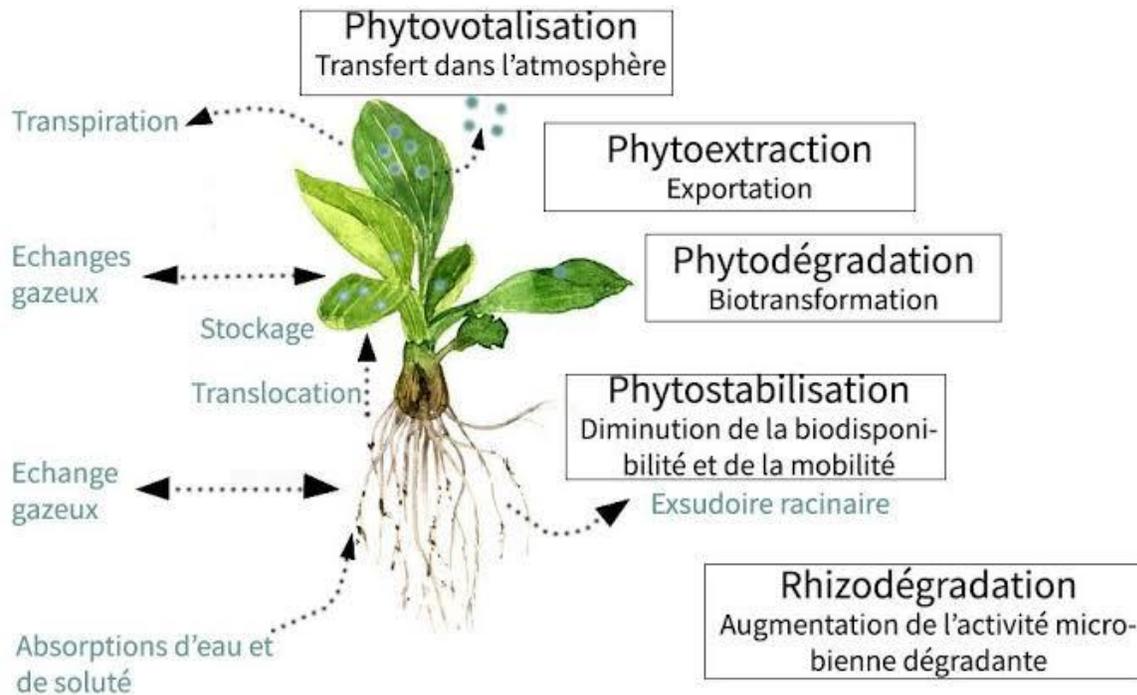


Figure 1 : Différents mécanismes de phytoremédiation (www.amp.issuu.com)

2-1-Phytostimulation ou rhizodégradation :

Selon Sterckeman et al. (2011), la rhizodégradation désigne la dégradation des contaminants, pour la plupart organiques, sous l'action des racines et des micro-organismes associés (figure 2). Les plantes utilisées ne sont pas dans la capacité de faire passer les éléments toxiques dans leurs organismes. L'efficacité de cette méthode dépendra donc de l'importance de la vie microbienne présente au sein de la rhizosphère. Le but de cette technique est de dégrader les polluants en substances moins toxiques, pour les réintégrer dans les cycles de matières. Les facteurs limitant cette technique sont la concentration en molécules toxiques et surtout la vie microbienne du sol.

Des plantes comme la luzerne (*Medicago sativa*) mais aussi le trèfle rampant (*Trifolium repens*) peuvent être utilisées dans cette technique (Bert et al., 2013).



Figure 2 : Processus de Rhizofiltration de l'arsenic avec des fougères (Elles et al., 2005)

2-2-Phytodégradation :

Cette méthode concerne la pollution organique et non pas celle des éléments traces métalliques. Les plantes utilisées dans cette technique n'ont pas la capacité de stocker les polluants dans leurs organismes. Cependant, elles sont capables de dégrader les polluants organiques à l'intérieur des cellules de leurs appareils aériens et racinaires (figure 3). Avec la phytodégradation, les plantes utilisées absorbent les molécules moins toxiques (Dabouineau et al., 2005). Les végétaux concernés sont donc capables de vivre dans des milieux saturés en polluants organiques. Ils absorbent les éléments polluants dans la solution du sol et les dégradent au sein de leurs différents appareils.

Si les molécules toxiques sont trop concentrées ou si la vie microbienne du sol n'est pas assez développée, ce processus sera ralenti voir irréalisable.

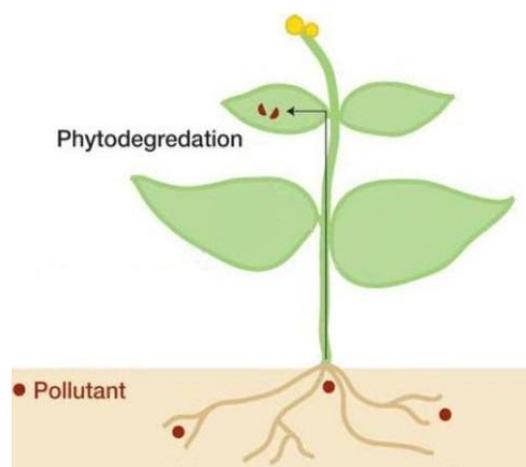


Fig. 3 : processus de phytodégradation (www.DocPlayer.fr)

2-3-Phytovolatilisation :

Cette technique utilise les plantes pour extraire les métaux lourds puis les éliminer par évaporation via les stomates des feuilles ou les tiges (figure 4). Parmi les métaux lourds, seuls le mercure et le sélénium sont adaptés à cette technique. Une fois volatilisés, les polluants se dispersent dans l'atmosphère à des concentrations qui, normalement, ne représentent plus un danger pour l'homme. La Phytovolatilisation présente également l'avantage de ne pas nécessiter de récolter de la biomasse puisque les contaminants sont dispersés dans l'atmosphère (Pilon-Smits, 2005 ; Anonyme, 2009 ; Dechamp er Meerts, 2003 ; Bert et Deram, 1999).

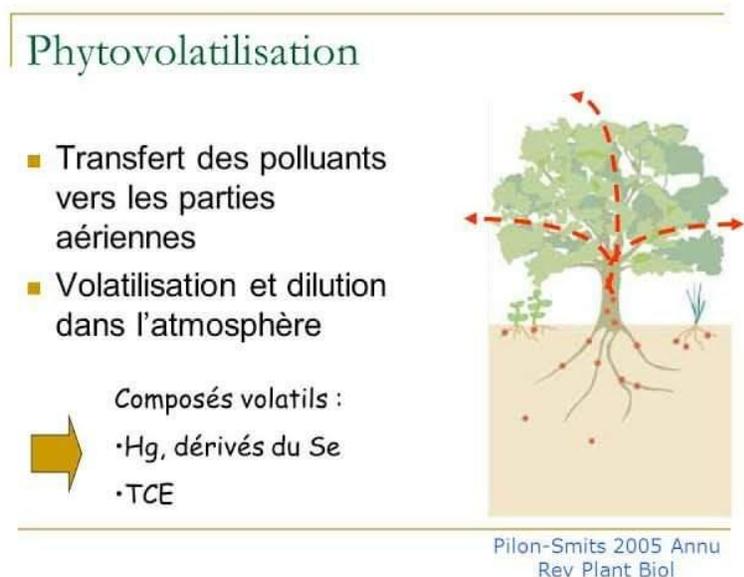


Fig. 4 : processus de phytovolatilisation (Pilon-Smith, 2005)

2-4-Phytostabilisation :

La Phytostabilisation (figure 5) est une technique de décontamination qui consiste à l'utilisation de plantes afin de contenir ou d'immobiliser les polluants (ADEME, 2013b). De ce fait, la mobilité des polluants est réduite ce qui prévient la migration du panache de contamination vers les eaux souterraines ou dans l'atmosphère. Cette technique est principalement utilisée afin de traiter les sols, les sédiments et les boues (EPA, 2000).

Les mécanismes biologiques impliqués durant la phytostabilisation sont l'absorption et l'accumulation des contaminants par les racines, l'absorption sur les racines ou la précipitation dans

la rhizosphère. La quantité d'eau qui s'infiltre dans le sol peut entraîner la formation de lixiviats contaminés. Les plantes les mieux adaptées à la Phytostabilisation sont des plantes qui doivent présenter de faible niveau d'accumulation des métaux dans leurs parties aériennes (Evans, 2009).

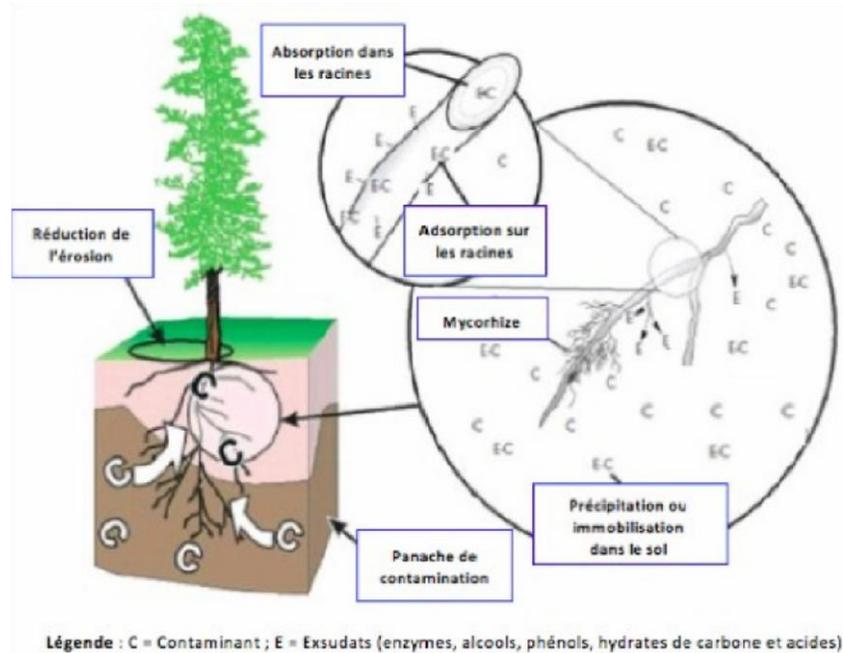


Fig. 5 : Représentation de la phytostabilisation (ITRC, 2001)

2-5-Phytoextraction :

La phytoextraction est la méthode de phytoremédiation la plus utilisée compte tenu du fait qu'il y a isolation des polluants, sans altérer la structure et l'activité biologique des sols (Ghosh et Singh, 2005). Aussi appelée phyto-accumulation, la phytoextraction (fig. 6) réfère à l'absorption des contaminants présents dans le sol par les racines de la plante.

Par la suite, ces contaminants sont transférés (ou transloqués) et accumulés dans les parties aériennes de la plante, comme les tiges et les feuilles, qui sont ensuite récoltées (EPA, 1999). Ce processus s'effectue grâce à l'accumulation graduelle de contaminants, par des plantes dites hyper accumulatrices.

On distingue deux types de phytoextraction : induite et continue (Salt et autres, 1998).

La phytoextraction induite nécessite l'ajout de chélateur dans le sol afin d'augmenter la mobilité et l'absorption des contaminants dans la plante (Ghosh et Singh, 2005). Tandis que la phytoextraction continue dépend plutôt des capacités génétiques et physiologiques des plantes, c'est-à-dire que les plantes doivent être en mesure d'accumuler des quantités particulièrement élevées de contaminants durant leur vie (Peer et al., 2006).

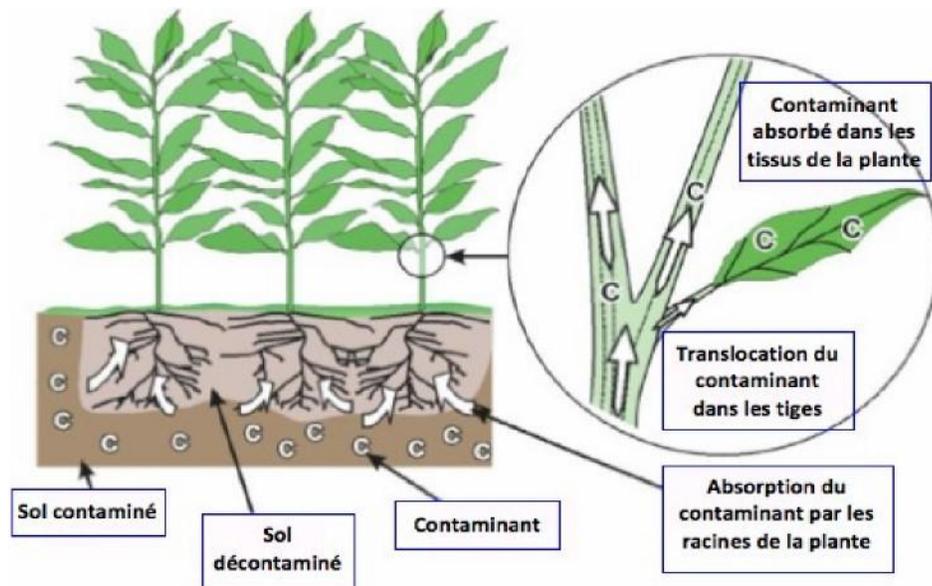


Fig. 6 : Processus de phytoextraction, absorption des contaminants présents dans le sol (ITRC, 2001)

3. Caractéristiques des espèces utilisées

Certaines plantes ont la capacité d'extraire les contaminants du sol par leurs racines et de les transférer et de les concentrer dans d'autres parties de la plante, telles que les troncs, les tiges, les branches ou les feuilles (Rudolph, 2010), dont certaines sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : caractéristiques des espèces utilisées dans la phytoremédiation

Mécanisme	Milieu	Caractéristiques des plantes utilisées	Exemples de plantes
Phytostimulation/ rhizodégradation	Sol Sédiments Boues Eaux souterraines	Forte biomasse. Enracinement important, augmentant leur surface de contact avec le sol et leur capacité de stockage d'éléments traces.	Fève (<i>Vicia faba</i>) Haricot (<i>Phaseolus vulgaris</i>) Luzerne (<i>Medicago sativa</i>) Orge (<i>Hordeum vulgare</i>) Pois (<i>Pisum sativum</i>) Pois chiche (<i>Cicer arietinum</i>)
Phytodégradation	Sol Sédiments Boues Eaux souterraines Eau de surface	Taux important de transpiration. Tolérance aux concentrations élevées de contaminants organiques. Stabilisation rapide sur un site. Capacité de dégradation des composés organiques.	Fève (<i>Vicia faba</i>) Haricot (<i>Phaseolus vulgaris</i>) Luzerne (<i>Medicago sativa</i>) Orge (<i>Hordeum vulgare</i>) Pois (<i>Pisum sativum</i>) Pois chiche (<i>Cicer arietinum</i>)
Phytovolatilisation	Eau de surface Sol Sédiments Boues	Pas obligatoirement hyperaccumulatrices des éléments métalliques (sélénium, mercure...) Capacité importante de produire des composés volatils à partir de ces éléments.	Plantes modifiées génétiquement (le maïs, le soja, la luzerne...)
Phytostabilisation	Sol Sédiments Boues	Tolérance des conditions de culture de site. Tolérance des métaux du site à remédier. Couverture végétale importante. Racines nombreuses moyennement profondes, stabilisant bien le sol.	Plantes exclusives (<i>Agrostis tenuis</i> , <i>Coleus</i> ...)
Phytoextraction	Sol Sédiments Boues	Biomasse importante. Grande capacité d'absorption des contaminants. Grande capacité de translocation des contaminants vers les parties récoltables de la plante Faible exigence par rapport à la qualité du sol.	Alysson murale (<i>Guillaume Echevaria</i>) Moutarde brune (<i>Brassica Juncea</i>) Fétuque faux roseau (<i>Festuca arundinacea</i>) Tabouret bleu (<i>Thlaspi Caerulescens</i>)

4. Les travaux de la recherche sur la phytoremédiation en Algérie

La recherche en Algérie est encore expérimentale. Au niveau des enseignants, quelques travaux ont été menés sur les sols contaminés par les hydrocarbures ces dernières années dont la synthèse est présentée dans le tableau 2.

Tableau 2 : Les principaux essais de phytoremédiation réalisés à l'UMMTO.

Les espèces utilisées	Le sol pollué	Résultats	Auteur et année
Orge (<i>Hordeum vulgare</i> L.) Luzerne (<i>Medicago sativa</i> L.)	Sol contaminé par le pétrole brut à 2% et 5%	-Effet des hydrocarbures sur le sol et les deux espèces -Effet positif de la Luzerne sur l'activité biologique du sol.	Ali Ahmed et Belkaid (2006)
Orge (<i>Hordeum vulgare</i> L.) Haricot (<i>Phaseolus vulgaris</i> S.)	Sol contaminé par le pétrole brut et l'essence à 5%	-Essence plus biodégradable que le pétrole. -Essence moins toxique que le pétrole brut. -Diminution du rendement végétal. -Modification de la microflore bactérienne. -Légumineuses sont plus efficaces dans la biodégradation des hydrocarbures.	Fezani et Khider (2007)
Blé dur (<i>Triticum durum</i> L.) Pois vivace (<i>Lathyrus latifolius</i> L.)	Sol contaminé au pétrole brut et à l'essence.	-Essence moins toxique que le pétrole. -Pois vivace plus résistant aux hydrocarbures que le blé dur. -Capacité des légumineuses à réhabiliter des sites contaminés.	Kellas, (2008)
Pois (<i>Pisum sativum</i> L.) Pois chiche (<i>Cicer arietinum</i> L.)	Sol pollué au pétrole brut	-Effet toxique des hydrocarbures sur les deux espèces et sur le sol. -Le pois est plus efficace dans la biodégradation des hydrocarbures que le pois chiche.	Benamara et Mohammadi (2010)
Maïs (<i>Zea mays</i> L.) Sorgho (<i>Sorghum bicolor</i> L.)	Sol pollué au pétrole brut	-Augmentation de l'humidité du sol. -Diminution du rendement en matière sèche des deux espèces. -Dégradation des hydrocarbures dans le sol.	Mahlal et Moula (2011)

<p>Haricot (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)</p> <p>Pois chiche (<i>Cicer arietinum</i> L.)</p>	<p>Sol contaminé le pétrole brut et l'essence</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Dégradation plus importante de l'essence que le pétrole brut. -Toxicité pour les deux espèces. -Effet sur les propriétés du sol. -Efficacité des légumineuses à améliorer la qualité des sols pollués. 	<p>Ait Tayeb et Titouche (2011)</p>
<p>Fève (<i>Vicia faba</i> L.)</p> <p>Trèfle (<i>Trifolium alexandrinum</i> L.)</p>	<p>Sol contaminé par le pétrole brut à 5%</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Plus grande résistance de la fève par rapport au trèfle. -La présence des nodules dans la fève favorise la décontamination des sols. 	<p>Belkacem et Rouas (2012)</p>

La plupart des travaux de recherche sur la phytoremédiation cités ci-dessus avaient pour objet de tester l'effet des espèces végétales dans la remédiation de sols pollués aux hydrocarbures, mais il serait intéressant d'évaluer l'effet de la variété génétique dans le processus de phytoremédiation.

**MATÉRIEL ET
MÉTHODES**

En vue de mettre en évidence l'effet de la variété sur l'efficacité de la décontamination des sols pollués aux carburants par phytoremédiation nous avons utilisé différentes variétés de fève et haricot.

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire PSEMRVC de la Faculté des Sciences Biologique et des Sciences Agronomiques à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

1-Matériel

1-1-Matériel végétal

Pour répondre aux objectifs de notre travail, nous avons utilisé trois espèces végétales, à savoir la fève et le haricot pour la décontamination du sol pollué et le maïs dans les essais de toxicité.

1-1-1- Fève :

La fève (*Vicia faba* L.) est une plante herbacée, annuelle, formée de plusieurs tiges érigées, de 60 à 80 cm de hauteur en moyenne, garnies de feuilles composées et de couleur grisâtre. Trois variétés de fève ont été testées : Aguadulce, Muchamiel et Reina Mora (Extra précoce à Grain violet).

1-1-2-1- Aguadulce (FA)

C'est une variété demi-précoce, très répandue en culture. Elle est caractérisée par une plante, de végétation haute de 1,10 à 1,20 m. Elle possède des gousses de couleur vert franc, volumineuses et très longues, pouvant atteindre 20 à 25 cm renfermant sept à neuf graines. C'est une variété très productive (Chaux et Foury, 1994).

1-1-2-2- Muchamiel (FM)

C'est une variété très précoce, elle a des gousses de couleur vert clair, de 20 cm de longueur en moyenne, refermant cinq à six grains blancs, elle est très productive (Chaux et Foury, 1994).

1-1-2-3- Reina Mora ou Extra Précoce à Grain Violet (FG)

C'est une variété extra précoce, vigoureuse et très productive, gousses de 23 à 24 cm de longueur contenant six à sept grains. La semence, une fois sèche, est de couleur violette brillante et de dimension moyenne (Lardjani, 2019).

1-1-2 Le haricot

Phaseolus vulgaris L. est une plante annuelle appartenant à la famille des Fabacées de l'ordre des Fabales. Trois variétés de haricot ont été testées : Contender, Mina et Oro.

1-1-2-1- Haricot nain mangetout ou Contender (HC)

Cette variété de haricot sans parchemin est résistante aux maladies et aux agresseurs, craint l'excès d'humidité et supporte bien la sécheresse. Elle est peu rustique, de végétation rapide et très productive (www.semaille.com).

1-1-2-2- Haricot nain à écosser ou Mina (HM)

C'est un haricot avec parchemin, dont les gousses peuvent être consommées à l'état jeune, mais qui sont cultivées surtout en vue de la récolte du grain, elle mesure alors 13 à 14 cm. Elle craint l'excès d'humidité et supporte la sécheresse (www.semaille.com).

1-1-2-3- Haricot nain fin vert ou Oro (HO)

Le haricot nain fin vert fait partie des haricots à filet ou mangetout à semer dans le potager. Cette variété craint l'excès d'humidité et résiste bien à la sécheresse. Ses gousses mesurent de 12 à 14 cm, à fort pourcentage d'extra-fins (www.willemse.fr).

1-1-3-Maïs

Le maïs (*Zea mays*) est une plante tropicale herbacée annuelle de la famille des Poacées, cultivée comme céréale dans diverses zones agro-écologiques. Le maïs constitue l'aliment de base de nombreuses populations (humaine et animale), il sert aussi de matière première dans certaines industries (agroalimentaire, textile, pharmaceutique, etc.), pour la création de plastique biodégradable, de biocarburants et même de l'alcool.

Le maïs est utilisé dans les essais biologiques pour estimer l'efficacité des traitements appliqués à la fin de l'essai de phytoremédiation car il fait partie des plantes les plus sensibles à la présence des hydrocarbures dans le sol (Chaîneau et al., 1996).

1-2- Le sol

L'étude expérimentale a été réalisée sur des échantillons de sol qui proviennent d'une station-service à Boukhelfa, située à 5Km à l'ouest du chef-lieu de la commune de Tizi-Ouzou, sur la route nationale n°12, reliant Alger à Tizi-Ouzou. Le prélèvement correspond à la couche superficielle du sol (0 à 25 cm). Il s'agit d'un sol pollué par de l'essence et du gasoil provenant des événements.

1-3- Les vers de terre

Les vers de terre sont des organismes indispensables au sol, ils jouent un rôle crucial dans la structuration, l'aération du sol et dans la minéralisation et la décomposition de la matière organique.

Le choix s'est porté sur l'espèce du genre *Eisenia* en raison de sa sensibilité aux hydrocarbures ce qui fait de lui un bon indicateur de la qualité du sol et un bon candidat pour les tests de toxicité aiguë (ISO, 2012).

2- Méthodes

2-1- Préparation du sol

Le sol a été exposé à l'air libre afin d'effriter les grosses mottes, puis tamisé à l'aide d'un tamis à mailles de 5 mm de diamètre pour préserver la structure du sol puis réparti en 18 lots placés chacun dans un pot de 15cm de diamètre et 15 cm de profondeur contenant une couche de galets surmontée d'une couche de sable afin d'assurer un bon drainage. Neuf pots ont été cultivés avec les trois variétés de fève et les neuf autres l'ont été avec les trois variétés de haricot. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque variété (fig. 7).



Fig. 7 : Dispositif expérimental de la culture de la fève et du haricot

La mise en place des cultures a été réalisée le 29 Mars 2022, pour les variétés des deux espèces (*V. faba* et *P. vulgaris*) dans des pots contenant 1kg de sol à raison de trois graines par pot.

2-2- Suivi des cultures

Cela consiste à observer quotidiennement l'évolution de l'état des cultures avec un arrosage régulier avec la même quantité d'eau, jusqu'à la récolte.

La récolte des plantes (les parties aériennes et racinaires) a eu lieu le 29 Mai 2022 après 8 semaines de culture. Le matériel végétal a été nettoyé et séché à l'air libre jusqu'à poids constant.

2-3- Evaluation de l'efficacité de la phytoremédiation

Des bio-essais ont été réalisés après la récolte des plants afin de comparer l'efficacité des différentes variétés à décontaminer le sol pollué aux carburants.

2-3-1- Croissance des plantes

Afin d'évaluer les effets phytotoxiques des hydrocarbures nous avons procédé à la mesure d'indicateurs de croissance qui sont les biomasses aérienne et racinaire des variétés d'haricot et de

fève. La biomasse est considérée comme étant un critère de mesure de rendement au niveau d'un sol contaminé. Il s'agit de prendre le poids de la partie aérienne et de la partie racinaire des plantes de chaque pot à l'état sec.

2-3-2- Test de germination des graines de maïs

Après la récolte des plants, nous avons évalué l'efficacité de ces variétés à décontaminer le sol par un test de germination du maïs (fig. 8), qui consiste à mettre dans une boîte de Pétri 100g de sol recouvrant 10 graines de maïs pour chaque répétition de l'expérience. Les boîtes ont été placées à 20°C et humidifiées régulièrement pendant 7 jours.

Après germination, le pourcentage des graines germées par rapport aux graines semées (TG) a été calculé pour chaque pot par la formule suivante :

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

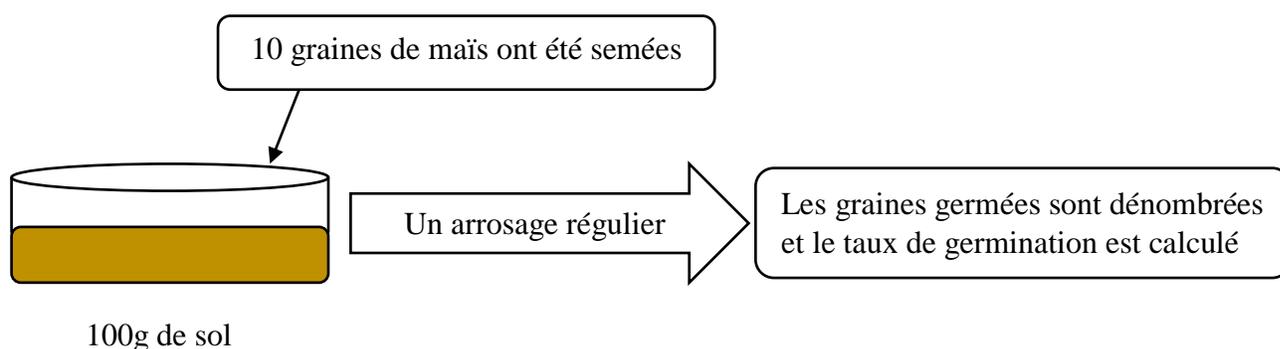


Fig. 8 : Dispositif du test de germination

2-3-3- Mesure de l'activité biologique du sol

2-3-3-1- Activité enzymatique de la catalase (CAT)

Elle a été déterminée selon le protocole décrit par Guan (1986). À l'échantillon de sol (2,5 g), ont été ajoutés 1,25 ml de H₂O₂ à 0,3 % et 20 ml de tampon phosphate (pH 7,0). Le mélange réactionnel a été incubé à 25°C pendant 20 minutes avant d'ajouter 1,25 ml de H₂SO₄ à 3,0 mol/L pour arrêter la réaction. Le mélange a été filtré à travers du papier filtre, puis 15 ml du filtrat ont été titrés avec

une solution de KMnO_4 à 0,02 mol/L. Enfin, l'activité CAT est mesurée par le volume dissipé de solution de KMnO_4 jusqu'à ce qu'une couleur rose clair apparaisse (fig. 9). L'activité enzymatique a été mesurée en triple pour chaque échantillon..

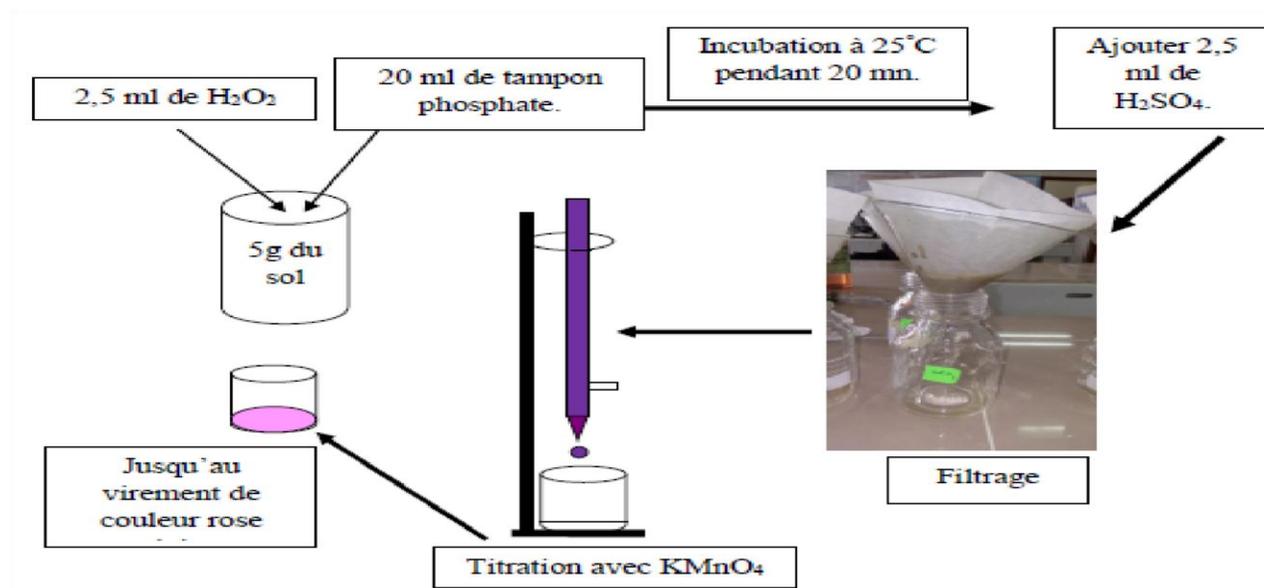


Fig. 9 : Protocole de mesure de l'activité de la catalase

2-3-3-2- Respiration microbienne

L'activité biologique globale a été décrite par Dommerges (1968). Elle a été évaluée par le test respirométrique.

Dans des flacons de 250ml, bien fermés, contenant 50g de sol chacun, 2 tubes à hémolyse ont été placés l'un contenant 3ml d'eau pour éviter le dessèchement du sol et l'autre 5ml de NaOH à 0,5N pour fixer le CO_2 dégagé par la respiration des microorganismes. Pour chaque sol, 3 répétitions ont été réalisées. Les sols ont été ensuite incubés pendant 7 jours à 28°C. Après incubation, le NaOH contenu dans les tubes est titré par le HCl dilué à 0,25N, en présence de phénophtaléine. La fin de la titration est marquée par la disparition de la couleur rose violacé (fig. 10).

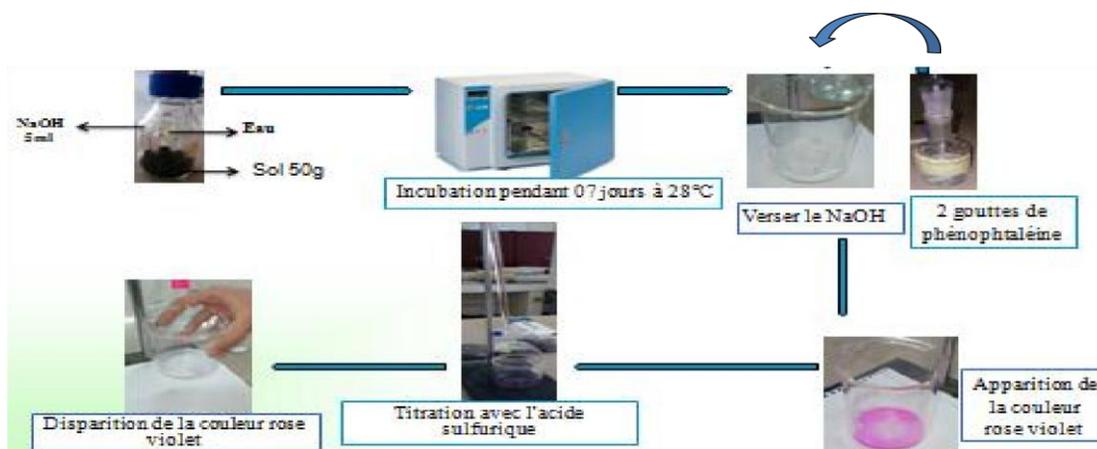


Figure. 10 : Protocole de mesure de la respiration microbienne

2-3-4- Viabilité et croissance des vers de terre

Le protocole d'essai de toxicité aiguë s'inspire des lignes directrices de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) pour les essais de produits chimiques, de la méthode EPS1/RM/43 d'Environnement Canada (OCDE, 1982 ; Environnement Canada, 2004) et de la norme ISO 11268-1 (1993). Il s'agit d'un test de toxicité du sol de 14 jours dans lequel l'effet biologique mesuré est le nombre des vers vivants et leur biomasse. Ce test biologique consiste à mettre 3 vers de terre adultes de l'espèce *Eisenia fetida* ayant le même poids dans un pot en plastique dans lequel sont placés 100 g de sol. Trois répétitions pour chaque sol ont été effectuées. Le récipient d'essai est recouvert d'un tissu à mailles afin d'éviter le dessèchement du substrat et pour permettre les échanges gazeux (fig. 11).



Fig. 11 : Protocole du test de toxicité sur les vers de terre.

2-3-5- Quantification des hydrocarbures dans le sol

Le but de cette extraction est d'évaluer la quantité d'hydrocarbures restante dans le sol après culture. L'extraction se fait en mélangeant 5g du sol de chaque pot séché et tamisé à 2mm avec 20 ml d'hexane avec agitation pendant 4 heures. Le mélange est ensuite centrifugé à 4500trs/mn pendant 20mn. Le surnageant est versé dans une boîte préalablement pesée et laissée à évaporation complète du solvant, les boîtes sont alors pesées à nouveau pour obtenir, par soustraction, le poids des hydrocarbures résiduels dans le sol (fig. 12).

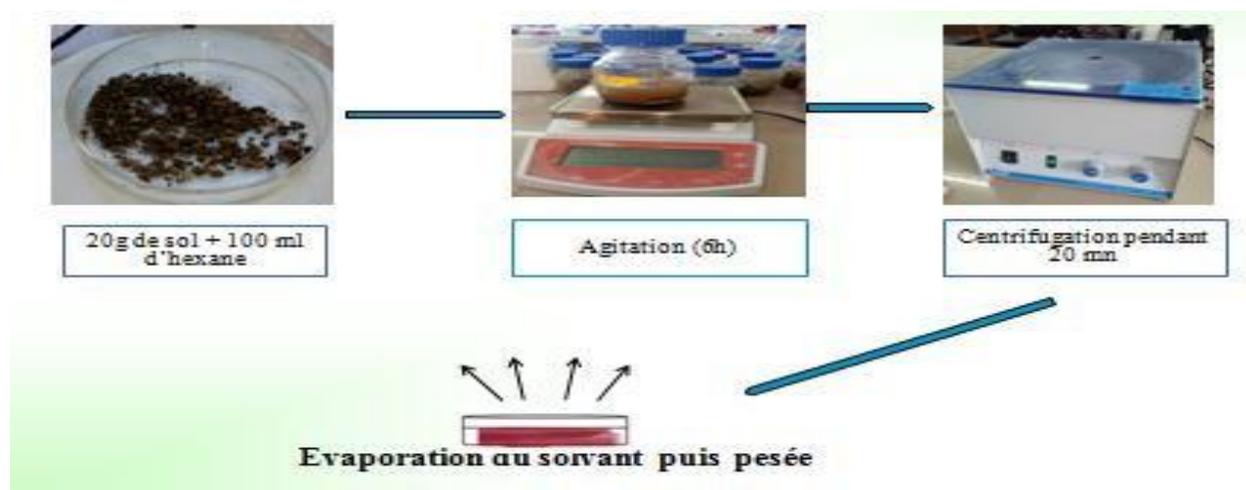


Fig. 12 : Protocole de l'extraction et de quantification des hydrocarbures résiduels.

2-4- Méthodes d'analyse statistique

L'analyse statistique des résultats obtenus a été effectuée avec le logiciel R.3.0.2. Pour tous les tests, la différence est considérée significative à $p < 0,05$.

Les résultats de l'effet de la variabilité génétique sur l'efficacité de la phytoremédiation, répondant à la normalité et à l'égalité des variances, ont été soumis au test d'anova hiérarchique ; le facteur principal est l'espèce et le sous-facteur est la variété. L'anova est suivie du test de Newman et Keuls lorsque les différences entre les moyennes sont significatives afin de les classer dans des groupes homogènes.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1- Résultats

Notre étude a consisté en l'évaluation de l'efficacité de quelques variétés de deux légumineuses, la fève et le haricot, à décontaminer un sol pollué par les carburants.

1-1- Biomasse aérienne

La figure 13 représente la biomasse aérienne des différentes variétés. La biomasse la plus élevée a été obtenue chez la variété de fève Muchamiel.

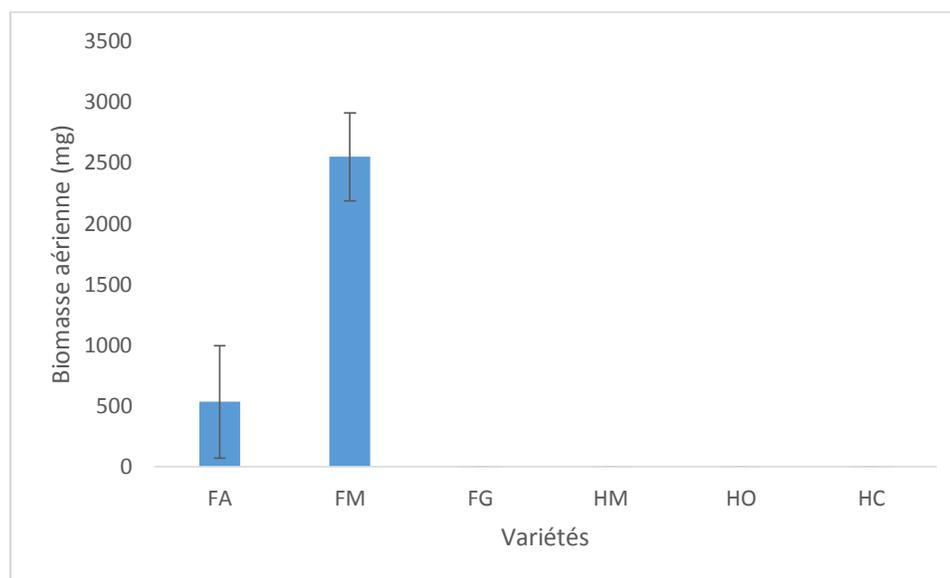


Fig. 13 : biomasse aérienne des différentes variétés.

L'analyse de la variance de la biomasse aérienne des espèces végétales étudiées (Annexe IV), a révélé qu'il y a une différence très hautement significative pour le facteur espèce avec une p-value de $4,868e-05$ et une différence hautement significative pour le sous-facteur variété avec une p-value de $0,00125$.

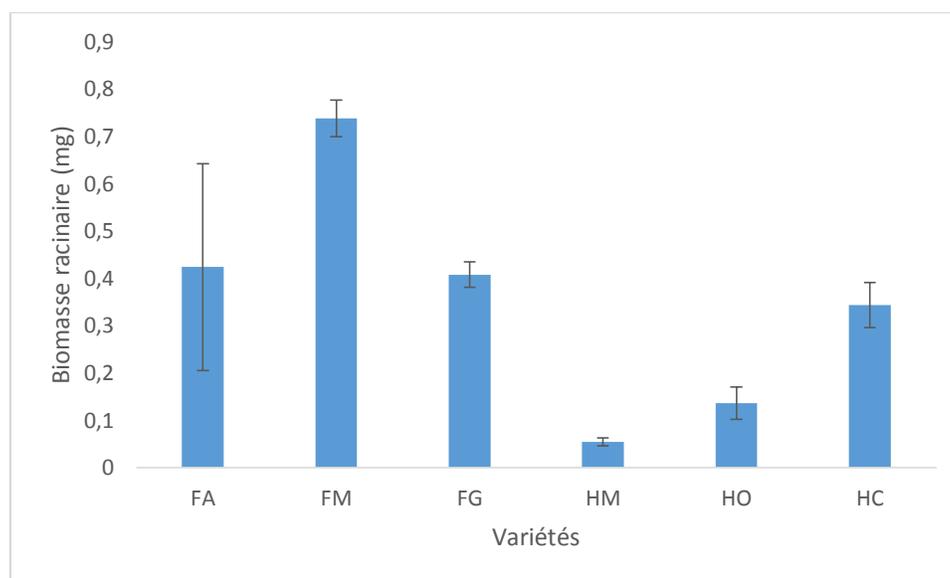
Le test Newman et Keuls (tableau 3) a fait ressortir deux groupes homogènes. Le groupe « a » qui inclut la fève Muchamiel, le groupe « b » qui regroupe la fève Aguadulce, la fève Extra Précoce à Grain Violet, le haricot avec ses trois variétés, ce qui signifie que la variété Muchamiel a eu la biomasse aérienne la plus importante.

Tableau 3 : Résultat du test de Newman et Keuls pour la biomasse aérienne

Espèce. Variété	Moyenne	Groupe
Fève Muchamiel	2,5486667	a
Fève Aguadulce	0,8316667	b
Fève Extra Précoce à Grain Violet	0,7460000	b
Haricot Contender	0,2470000	b
Haricot Mina	0,1550000	b
Haricot Oro	0,1273333	b

1-2- Biomasse racinaire

La figure 14 représente la biomasse racinaire des différentes variétés. La biomasse la plus élevée a été enregistrée chez la variété de fève Muchamiel.

**Fig. 14** : Biomasse racinaire des différentes variétés.

L'analyse des données par le test de l'anova hiérarchique (Annexe VI) a révélé qu'il y a une différence hautement significative pour le facteur espèce sur la biomasse racinaire des plantes avec p-value égale à 0,002208 et une différence non significative pour le sous facteur-variété avec (p-value=0,108731).

Le test Newman et Keuls (tableau 4) a classé les moyennes en trois groupes homogènes. Le groupe « a » qui contient la fève Muchamiel, le groupe « b » dans lequel nous retrouvons le haricot Oro

et le haricot Mina, et le groupe « ab » dans lequel contenant la fève Aguadulce, la fève Extra Précoce à Grain Violet et le haricot Contender.

Tableau 4 : Résultat du test de Newman et Keuls pour la biomasse racinaire

Espèce. Variété	Moyenne	Groupe
Fève Muchamiel	0,73766667	a
Fève Aguadulce	0,42366667	ab
Fève Extra Précoce à Grain Violet	0,40733333	ab
Haricot Contender	0,34333333	ab
Haricot Oro	0,13600000	b
Haricot Mina	0,05433333	b

1-3- Taux de germination des graines

Pour l'évaluation de la toxicité des carburants vis-à-vis des espèces végétales, nous avons calculé le taux de germination qui est un indicateur fiable de la qualité biologique du sol.

La figure 15 représente le taux de germination du maïs dans le sol des différentes variétés. Le taux le plus élevé ayant été obtenu dans le sol cultivé avec la variété de fève d'Aguadulce.

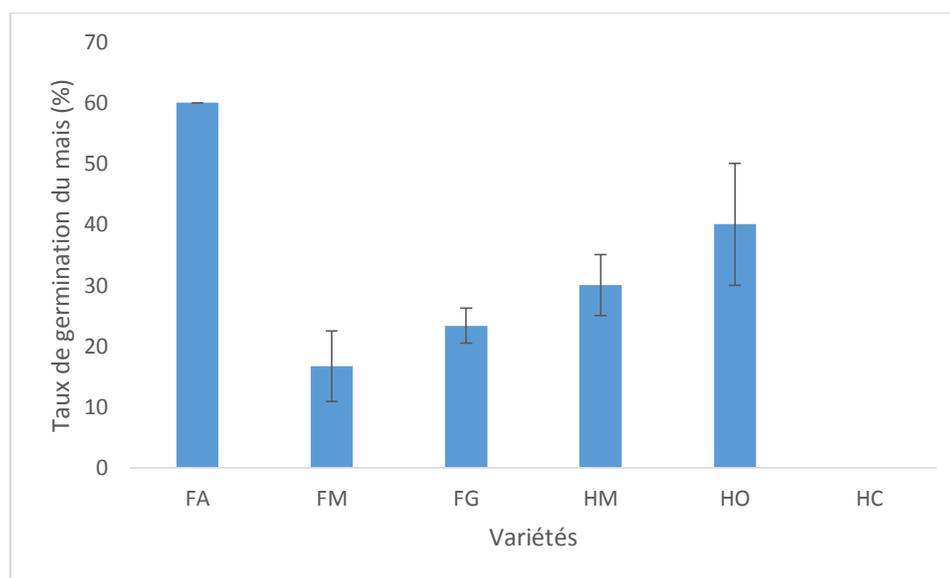


Fig. 15 : Taux de germination des grains de maïs dans le sol des différentes variétés.

L'analyse de la variance du taux de germination du maïs dans le sol des différentes variétés (Annexe II) a révélé qu'il y a une différence hautement significative pour le facteur espèce avec une p-value de 0,0022 et une différence non significative pour le sous-facteur variété avec une p-value de 0,1087.

1-4- Test respirométrique

La figure 16 représente la quantité du CO₂ dégagée dans le sol des différentes variétés. La quantité la plus élevée étant obtenue dans le sol de la variété de fève Muchamiel.

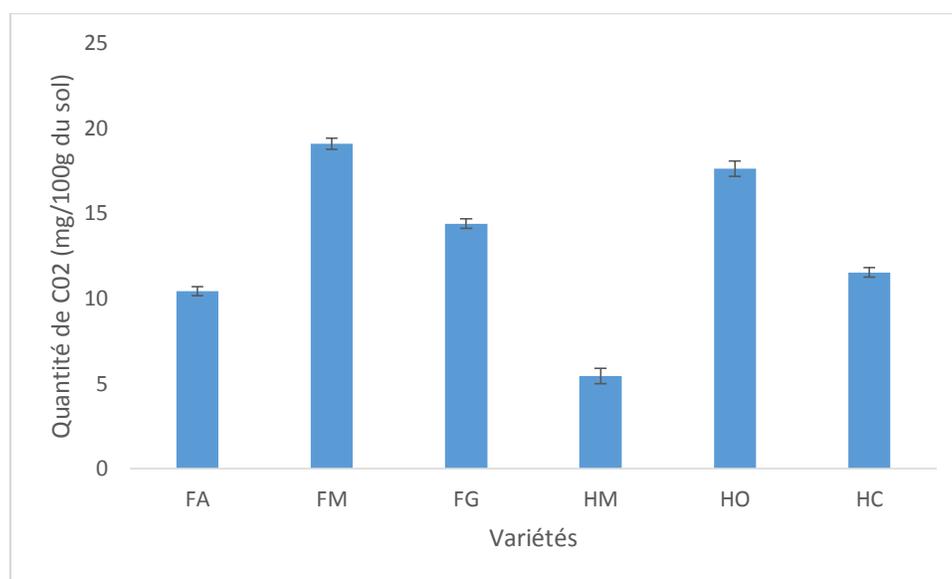


Fig. 16 : Respiration microbienne dans le sol des différentes variétés.

D'après les résultats de l'anova hiérarchique concernant la quantité du CO₂ dégagée dans chaque échantillon (Annexe VIII), il y a des différences très hautement significatives pour chacun des facteurs espèce et le sous-facteur variété, avec des p-values respectives de 7,474e-07 et 1,990e-10.

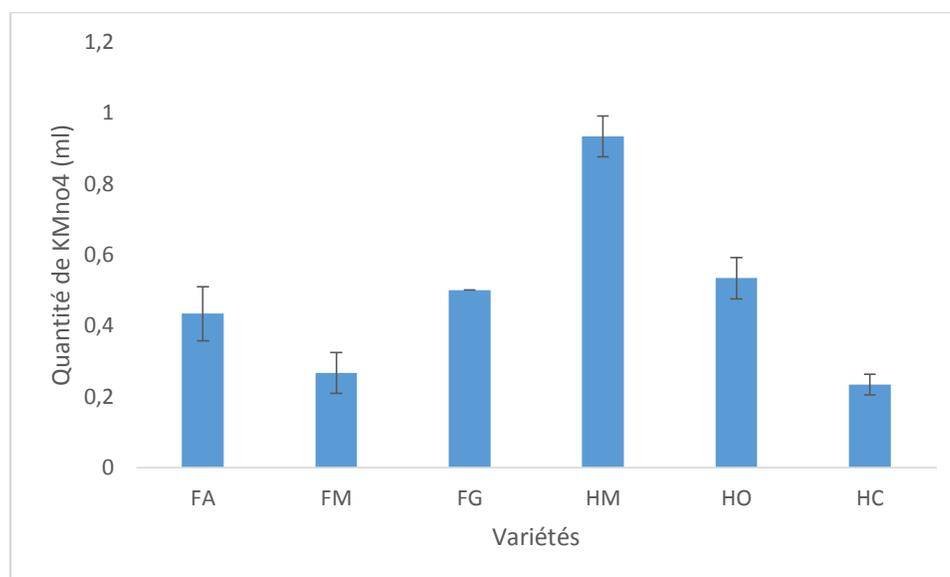
Le test Newman et Keuls (tableau 5) a fait ressortir cinq groupes homogènes. Le groupe « a » contient la fève Muchamiel, le groupe « b » contient le haricot Oro, le groupe « c » contient la fève Extra Précoce à Grain Violet, le groupe « d » contient le haricot Contender et la fève Aguadulce et le groupe « e » qui contient le haricot Mina.

Tableau 5 : Test de Newman et Keuls pour la respiration microbienne.

Espèce. Variété	Moyenne	Groupe
Fève Muchamiel	19,066667	a
Haricot Oro	17,600000	b
Fève Extra Précoce à Grain Violet	14,373333	c
Haricot Contender	11,513333	d
Fève Aguadulce	10,413333	d
Haricot Mina	5,426667	e

1-5- Activité de catalase

La figure 17 représente la quantité de KMnO_4 qui a réagi avec le H_2O_2 dans le sol des différentes variétés. La quantité la plus élevée a été observée dans le sol de la variété de haricot Moro.

**Fig. 17** : Activité de catalase dans le sol des différentes variétés.

L'anova hiérarchique (Annexe X) a montré qu'il y a une différence hautement significative pour le facteur espèce avec une p-value de 0,005736, et une différence très hautement significative pour le sous-facteur variété (p-value=4,426e-05).

Le test de Newman et Keuls (tableau 6) concernant l'activité enzymatique dans chaque échantillon de sol a ressorti quatre groupes homogènes. Le groupe « a » qui contient le haricot Mina, le groupe

« b » le haricot Oro et la fève Extra Précoce à Grain Violet, le groupe « bc » qui contient la fève Aguadulce et le groupe « c » contient la fève Muchamiel et le haricot Contender.

Tableau 6 : Test de Newman et Keuls pour l'activité de la catalase.

Espèce. Variété	Moyenne	Groupe
Haricot Mina	0,9333333	a
Haricot Oro	0,5333333	b
Fève Extra Précoce à Grain Violet	0,5000000	b
Fève Aguadulce	0,4333333	bc
Fève Muchamiel	0,2666667	c
Haricot Contender	0,2333333	c

1-6- Biomasse des vers de terre

La figure 18 représente la biomasse des vers de terre dans le sol des différentes variétés.

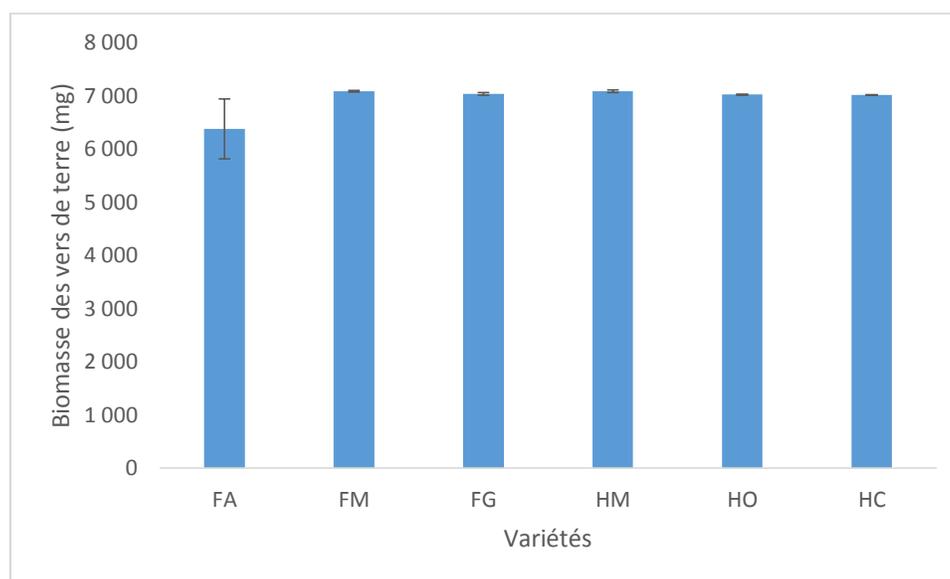


Fig. 18 : Biomasse des vers de terre dans le sol des différentes variétés.

L'anova hiérarchique (Annexe XII) a montré qu'il n'y a pas de différences significatives pour le facteur espèce avec une p-value de 0,418.

1-7- Mortalité des vers de terre

La figure 19 représente le taux de survie des vers de terre dans le sol des différentes variétés. Le sol cultivé avec la fève d'Aguadulce a été le moins toxique pour les vers de terre.

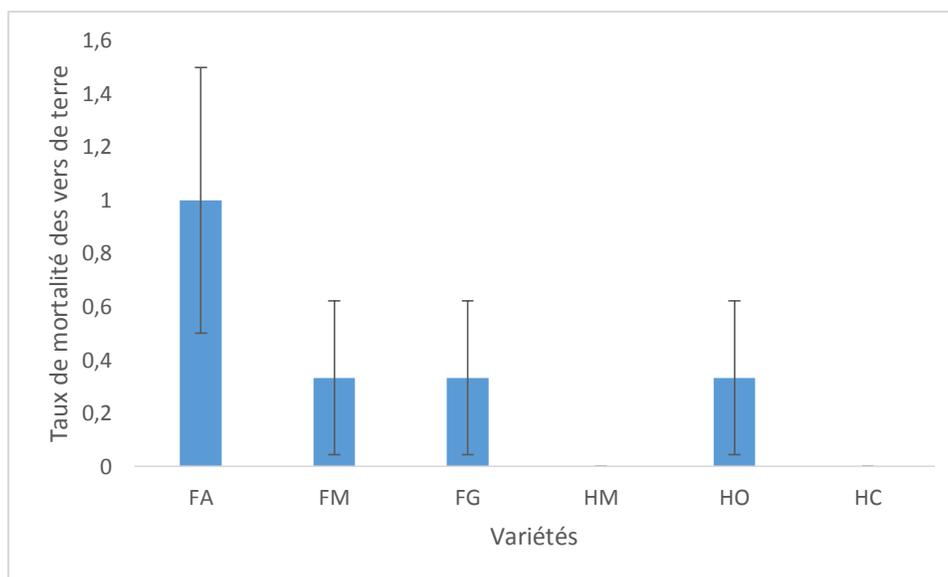


Fig. 19 : Taux de mortalité des vers de terre dans le sol des différentes variétés.

L'anova hiérarchique (Annexe XIII) a montré qu'il n'y a pas de différences significatives pour le facteur espèce avec une p-value de 0,366.

1-8- Quantité des hydrocarbures

La figure 20 représente la quantité de carburants résiduels dans le sol des différentes variétés. La quantité la plus élevée ayant été obtenue dans le sol de la variété FG.

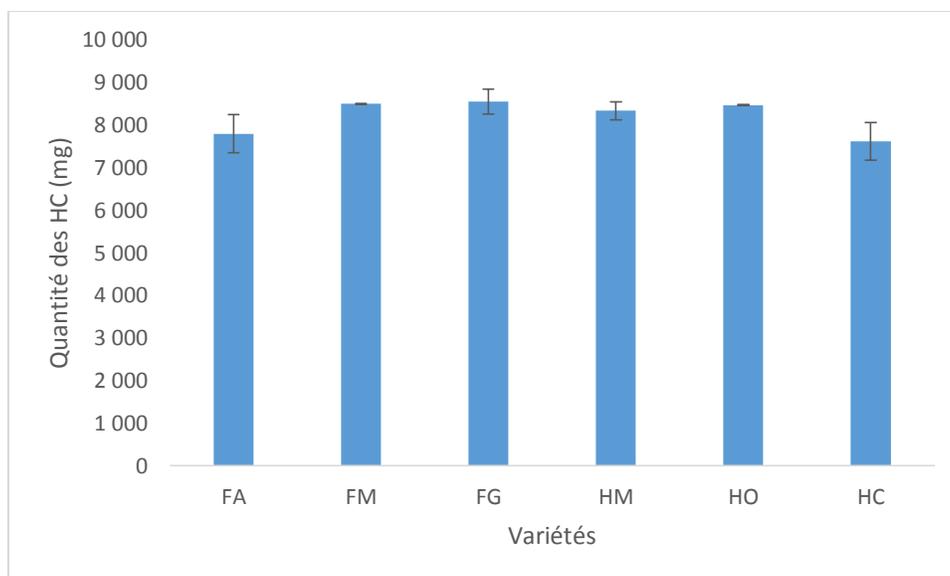


Fig. 20 : Quantité des hydrocarbures dans le sol des différentes variétés.

L'analyse statistique des données pour la quantité d'hydrocarbures extraits de chaque échantillon de sol (Annexe XIV) a montré qu'il n'y a pas de différences significatives pour le facteur espèce avec une p-value de 0,6224 et pour le sous-facteur variété (p-value=0,2266).

2- Discussion

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'efficacité de différentes variétés de deux espèces (le haricot et la fève) dans la décontamination d'un sol pollué par les carburants. Ce travail vise aussi à étudier la pertinence des bio-essais dans l'évaluation de l'efficacité de la phytoremédiation.

D'après le test de germination, la fève a donné un taux de germination plus élevé que celui obtenu dans le sol cultivé par le haricot.

Des études ont montré que les plantes sont capables d'absorber et de métaboliser un grand nombre de polluants organiques et inorganiques. Les plantes secrètent des exsudats racinaires qui stimulent la bioremédiation microbienne au niveau de la rhizosphère (Abdelly, 2007).

La fève possède un système racinaire puissant et une caractéristique de symbiose : qui est l'association des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium léguminosarum*) avec les racines des

légumineuses, cela procure au sol une bonne aération au sol comme elle accélère la dégradation naturelle des hydrocarbures (Crouquist, 1981).

Les résultats de la biomasse aérienne et de la biomasse racinaire des différentes variétés ont montré que la variété Muchamiel représente la biomasse végétale la plus élevée par rapport aux autres variétés de fève, par contre les trois variétés d'haricot étudiées représentent toutes de faible biomasse végétale.

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

Le test respirométrique montre que la quantité de CO₂ dégagée par les microorganismes est plus élevée dans le sol qui a porté la variété Muchamiel de fève, et dans le sol qui a porté la variété haricot nain fin vert (Oro), et cela du au système racinaire important que représente les deux variétés.

La plante fournit les nutriments par les exsudats racinaires, et parfois de l'oxygène pour les populations microbiennes de la rhizosphère, ce qui augmente la biodisponibilité des contaminants pour la plante et les microorganismes (Tanee et Kinako, 2007) et cela permet d'augmenter l'activité biologique du sol.

L'activité enzymatique était plus élevée dans le sol qui a porté la variété Mina de haricot.

Concernant les variétés de fève cette première est un peu plus élevée dans le sol cultivé par la fève Extra Précoce à Grain Violet par rapport aux autres échantillons.

Plusieurs études ont montré qu'une contamination par le gasoil provoquait une augmentation significative de tous les paramètres biologiques du sol tels que la biomasse microbienne et l'activité enzymatique (Margesin et al. 2004 ; Tejada et al. 2008). Lorsque ils sont utilisés comme substrat, les polluants peuvent avoir une action positive sur l'activité microbienne en induisant une production plus élevée d'enzymes (Wyszkowska et Kucharski., 2004 ; Wyszkowska et al. 2006 ; Dindar et al. 2015).

Les résultats obtenus pour la quantité des hydrocarbures extraite de chaque sol montrent que le sol cultivé par le haricot Contender présente la plus faible quantité d'hydrocarbures, suivie par le sol cultivé par la fève d'Aguadulce.

En présence de plante, une stimulation et une accélération de la dissipation des hydrocarbures peut être observée, résultant souvent d'une augmentation du nombre de bactéries dégradantes (Morel, 2002).

Le calcul de taux de mortalité des vers de terre dans chaque échantillon a montré que le nombre de vers de terre morts est plus élevé dans le sol cultivé par les variétés de la fève en particulier le sol contenant la variété Muchamiel, par rapport au sol cultivé par les variétés d'haricot.

Un sol contaminé par des hydrocarbures a des effets toxiques, il induit la mortalité des vers de terre (Vasseur et al., 2008).

CONCLUSION

Conclusion

Afin de réduire les risques écotoxicologiques associés aux sols contaminés par les hydrocarbures, la technologie de phytoremédiation semble offrir une solution verte à cet épineux problème de pollution, qui passe par la mise en place de couverts végétaux adaptés laissant passer les contaminants fixés au sol vers le couvert végétale.

Ce travail a été entrepris pour mettre en évidence l'impact des hydrocarbures sur le sol et la végétation, pour faire progresser notre compréhension des effets écotoxiques des polluants organiques et pour mener des tests de phytoremédiation en utilisant deux espèces végétales connues par leur caractère polluants résistants, afin d'évaluer l'efficacité de cette technologie et l'efficacité de la diversité génétique dans l'assainissement des sols contaminés.

Par le biais d'une étude au laboratoire, certains paramètres de la végétation et les propriétés des sols contaminés par des hydrocarbures ont été examinés. Ceci a été observé en comparant des sols contaminés cultivés dans trois variétés différentes de fève avec des sols cultivés dans trois autres variétés de haricot, et a tenté de mettre en évidence la remédiation ou la capacité des différentes variétés à répondre à cette contamination du sol.

D'après les résultats obtenus au cours de notre travail, nous pouvons conclure que l'action des hydrocarbures se traduit par une diminution du rendement végétal confirmé par la biomasse végétale chez les variétés de haricot qui ont marqué de faibles biomasses surtout la variété Mina, la fève a mieux supporté la contamination par les hydrocarbures, et la variété Muchamiel a présenté la meilleure résistance par rapport aux autres variétés.

Le test de germination des graines du maïs confirme que la variété d'Aguadulce, qui fait partie des variétés de la fève présente, a eu une bonne adaptation au stress causé par les hydrocarbures et une bonne remédiation du sol contaminé, suivie par la variété Contender du haricot qui a montré aussi une bonne résistance vis-à-vis de la pollution par les hydrocarbures.

Le test respirométrique a montré que les variétés Muchamiel de fève et Oro du haricot présentent une bonne adaptation aux hydrocarbures en voyant le taux de CO₂ dégagée par les microorganismes (une forte respiration) dans les sols cultivés par ces deux variétés.

Le test de catalase a montré que l'activité enzymatique est plus importante dans le sol cultivé par le haricot nain à écosser Mina, et plus faible dans celui cultivé par le haricot Contender. Concernant

Conclusion

les variétés de fève, l'activité de la catalase est un peu plus élevée dans le sol cultivé par la fève Extra Précoce à Grain Violet par rapport aux autres échantillons.

Concernant les vers de terre on remarque que le taux de mortalité est plus élevé dans le sol cultivé par les variétés de la fève par rapport au sol cultivé par les variétés d'haricot.

Les résultats obtenus pour la quantité des hydrocarbures confirment que la variété Contender d'haricot avait la faible quantité d'hydrocarbures, ce qui signifie que cette variété présente une bonne adaptation à la pollution et une bonne remédiation du sol.

Ce travail nous a permis de montrer l'efficacité d'un traitement biologique qui est la phytoremédiation par les bio-essais qui ont montré que le sol contaminé cultivé par les différentes variétés végétales que ce soit celles de la fève ou celles du haricot a été remédié, et l'effet des hydrocarbures a été réduit.

Au regard de résultats obtenus, nous nous sommes aperçues que les effets des hydrocarbures sont différentes d'une espèce à une autre, et nous avons remarqué que la fève est plus résistante par rapport au haricot, mais par contre la diversité génétique ne joue pas vraiment un rôle sur l'effet de la phytoremédiation des sols contaminés.

Enfin, nous proposons quelques perspectives de recherche :

- La réalisation de ces essais de phytoremédiation sur le terrain afin de confirmer les résultats obtenus dans les expériences de laboratoire.
- La réalisation des études sur les relations sol-plantes-microorganismes, ainsi que les mécanismes enzymatiques impliqués dans la dégradation et la transformation des hydrocarbures qui permettra d'optimiser les techniques de phytoremédiation.
- Pour renforcer l'idée de remplacer les plantes alimentaires (légumineuses) par des plantes ornementales, il est souhaitable de réaliser des essais de phytoremédiation en utilisant d'autres espèces.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **Abdely C., 2007.** **Bioremediation** /phytoremédiation Série N 232. Univesite de Tunis Institut Supérieur de l'Education et de la Formation Continue Département des Sciences Naturelles. 31p.
- **ADEME, 2013** : Technique de Traitements : Phytostabilisation. In ADEME. Sites pollués et sols. 68 p.
- **Alrumman S.A., Standing D.B., Paton G.L., 2015:** Effect of hydrocarbon contamination on soil microbial community and enzyme activity. Journal of King Saud University_Science. 27,31-41.
- **Andreoni V., Cavalca L., Rao.M.A., Nocerino G., Bernasconi S., Dell'Amico E., Colombo M., Gianfreda L., 2004:** Bacterial communities of PAHS polluted soils, Chemosphere. 57. 401-412.
- **San Miguel A., 2011** : Phytoremédiation des organochlorés : Etude mécanistique et fonctionnelle des capacités épuratrices de système plante-rhizosphère. Thèse de doctorat. Université de Grenoble. 49p.
- **Ben kherfia I. 2020** : Contribution à l'étude de la biodégradions des hydrocarbures par le processus de la phytoremédiation. Mémoire de mater spécialité microbiologie appliquée.144 p.
- **Bert Valérie., Anissa Hadj-Sahraoui., Corinne Leyval., Joel Fontaine., Stéphanie Ouvrard., 2013:** Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués.85 p.
- **Calabrese E.J., Blain, 2009:** Hormesis and plant biology. Environmental Pollution. Vol 157.pp:42.
- **Chaineau C. H., Morel J. L., Oudot J., 1996:** Land treatment of oil based drill cutting in an agricultural soil. Journal of Environmental Quality. Vol. 25. N°4. pp: 858-867.
- **Chaux et Fourry, 1994:** Production légumière: légumineuses potagères, légumes fruits, Lavoisier, Paris, pp.4-8.
- **Chaux et Fourry., 1994** : Production legumiere, legumineuses potageres, legumes, fruits. Tome 3. Lavoisier, Paris. 578 p.
- **Chineau C.H.,Morel J.L.,Oudot J.,1997** : Phytotoxicity and plant Uptac of fuel oil hydrocarbons.J. Environ.Qual.Vol. 26. pp: 1478-1483.
- **Cuny D.,Rzepka M-A., Bulteau G., Lakel A et Devred I.,1989** : Quel rôles les plantes peuvent-elle jouer, vis-à-vis de pollution à l'intérieur des locaux.p33.

Références bibliographiques

- **Démusère R., 2011** : Développement d'un indice mesurant la stabilité enzymatique relative des sols pour évaluer l'impact d'une contamination organique complexe sur la qualité des sols dans un contexte de remédiation. Mémoire en Génie chimique. Université de Montreal.188p.
- **Dindar E., Sagban O., Baskay H.S., 2015**: Variations of soil enzyme activities in petroleum-hydrocarbon contaminated soil. Journal International Biodeterioration and Biodegradation. Vol. 105.pp: 268-275.
- **Dommergues Y., 1968**: Principes de méthodologie en microbiologie du sol. Nouveaux documents pour une étude intégrée en écologie du sol. Pp : 13-30. Edt Centre National de la Recherche Scientifique.
- **Domy C. Adriano., 2001**: Trace elements in the terrestrial environment. Biochemistry, Bioavailability and Risks of Metals, 2^{ème} Edition, New York: Springer-Verlag. 867p.
- **Fezani S., Khider F., 2007**: Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes, leur caractérisation et leurs effets sur la microflore du sol.73pp. Mémoire d'ingénieur d'état en biologie. Université de Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- **Ghosh et Singh 2005**: A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. Vol. 133. Pp: 365-371.
- **Girard 2005** : Sol et Environnement. Edition DUNDO, Paris.799p.
- **Guan S.Y., 1986**: Soil enzymes and research methods in Chines. China Agricultural Science Press. Pp: 274-323.
- **International Organisation for Standardization (ISO 11268-1), 2012**. Soil quality-Effects of pollutant on earthworms-Part 1: Determination of acute toxicity to Eiseniafetida/Eiseniaandrei.7p.
- **ITRC 2001**: Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group (ITRC 2001), phytotechnology Technical and Regulatory Guidance Document. Washington, D.C., ITRC and phytotechnologies Teams, 124p. phyto- -2.
- **Koller E., 2004**: Traitement des pollutions industrielles (eau, air, déchets, sol, boues). Edition DUNOD, Paris. Série Environnement et Sécurité. L'usine nouvelle. 424 p.
- **Koller., 2009**: Traitement des pollutions industrielles (eau, air, déchets, sol, boues) Edition DUNDO 2^{ème} Edition. Paris. 570 p.

Références bibliographiques

- **L'ADEME ; 2006** : Traitement biologique des sols pollués : recherche et innovation. Coordination technique : Frédérique CADIERE-Département sites et sols pollués. Direction déchets et sols-ADEME (Angers).86 p.
- **Lardjani Ayoub (2019)** : L'effet du stress salin sur la germination de la fève (Variété locale, Luz de Otono, Claro de Luna).Mémoire de master en Science Agronomique UMKB. 30 p.
- **Peer W.A., Ivan R. Baxter., Elizabeth L., Richards., John L.Freeman., Angus S. Murphy.,2006**: Phytoremediation and hyper accumulator plants.43 p.
- **Pilon. Smits E., 2005**: Phytoremediation. Annual review of plant biology. Vol 56, p.15-39.
- **Salt D.E., Smith R.D., Raskin.I., 1998**: Phytoremediation. Annual Review of plant physiology and plant Molecular Biology, Vol 49, p 643-668.
- **Shirdam R., Zand.A.D., Nabi.R.,Mehrdadi.N., 2008**: Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils with emphasis on the effects of petroleum hydrocarbons 86 the growth of plant species.89 (1): 21-29.
- **Site web 1**:www.semaille.com
- **Site web 2**:www.willemse.fr
- **Sterckeman T., Baize D., 2001**: Of the necessity of knowledge of the natural pedo-geochemical background content in the evaluation of the contamination of soils by trace elements. 127-139.
- **Tanee F.B.J., Kinako P.D.S., 2007**: Comparative studies of Biostimulation and Phytoremediation in the Mitigation of Crude Oil Toxicity in Tropical Soil J.Appl.Sci.Enviro.Manage. VOL.12.N°2.pp:143-147.
- **Wyszkowska J., Kucgarsk M.J., Kucharski J., Polish j., 2006** : Application of the Activity of soil Enzymes in the Evaluation of soil Contamination by Diesel Oil. Polish .J of Environ.Stud. Vol 15.N°3. pp: 501-506.

ANNEXES

Annexes

Annexe I : les résultats bruts de tous les paramètres

1- Test de germination des graines de maïs.

Nombre de graine germé	Fève d' Aguadulce	Fève Muchamiel	Fève Extra précoce à grain violet	Haricot Contender	Haricot Mina	Haricot Oro
Echantillon 01	6	3	2	3	6	2
Echantillon 02	6	1	3	2	2	8
Echantillon 03	6	1	2	4	4	6

2-Biomasse aérienne des différentes variétés

Biomasse aérienne	Fève d' Aguadulce	Fève Muchamiel	Fève Extra précoce a grain violet	Haricot Contender	Haricot Mina	Haricot Oro
Echantillon 01	0,629	1,902	0,783	0,360	0,166	0,123
Echantillon 02	1,602	3,332	0,774	0,197	0,080	0,092
Echantillon 03	0,264	2,412	0,681	0,184	0,219	0,167

3-Biomasse racinaire des différentes variétés

Biomasse racinaire	Fève d' Aguadulce	Fève Muchamiel	Fève Extra précoce à grain violet	Haricot Contender	Haricot Mina	Haricot Oro
Echantillon 01	0,234	0,722	0,345	0,235	0,072	0,201
Echantillon 02	0,924	0,821	0,441	0,388	0,052	0,065
Echantillon 03	0,113	0,670	0,436	0,407	0,039	0,142

4-Le test respirométrique

Annexes

Variété	V acide (ml)	Masse co2 fixé
Aguadulce	5	11
Aguadulce	4,5	9,9
Aguadulce	4,7	10,34
Muchamiel	6,8	14,96
Muchamiel	6,5	14,3
Muchamiel	6,3	13,86
Extra PGV	9	19,8
Extra PGV	8,6	18,92
Extra PGV	8,4	18,48
Contender	5,5	12,1
Contender	5	11
Contender	5,2	11,44
Mina	2,8	6,16
Mina	2,6	5,72
Mina	2	4,4
Oro	8,4	18,48
Oro	8	17,6
Oro	7,6	16,72

5-Activité de catalase (volume de KMno4 qui a réagi avec le H2O2)

Volume (ml)	Fève d'Aguadulce	Fève Muchamiel	Fève Extra précoce à grain violet	Haricot Contender	Haricot Mina	Haricot Oro
Echantillon 01	0,6	0,4	0,5	0,3	0,8	0,4
Echantillon 02	0,3	0,2	0,5	0,2	1	0,6
Echantillon 03	0,4	0,2	0,5	0,2	1	0,6

6- Extraction des hydrocarbures

Quantité des HC (g)	Fève d'Aguadulce	Fève Muchamiel	Fève Extra précoce à grain violet	Haricot Contender	Haricot Mina	Haricot Oro
Echantillon 01	6,860	8,533	8,892	8,572	8,578	8,505
Echantillon 02	8,654	8,490	7,883	6,816	8,596	8,475
Echantillon 03	7,889	8,479	8,891	7,468	7,843	8,442

7-Taux de survie des vers de terres

Annexes

Variété	T0	24H	48H	72H	14 Jours
Aguadulce	3	3	2	2	2
Aguadulce	3	3	3	3	1
Aguadulce	3	3	1	0	0
Muchamiel	3	3	2	1	1
Muchamiel	3	2	1	0	0
Muchamiel	3	2	1	0	0
Extra PGV	3	3	3	0	0
Extra PGV	3	3	3	1	0
Extra PGV	3	3	3	2	0
Contender	3	2	1	0	0
Contender	3	2	1	0	0
Contender	3	2	1	1	0
Mina	3	2	2	1	0
Mina	3	2	2	0	0
Mina	3	2	2	1	0
Oro	3	3	2	1	1
Oro	3	2	2	0	0
Oro	3	2	1	0	0

8-Biomasse des vers de terre

Variété	T0	24H	48H	72H	14 Jours
Aguadulce	7,0789	7,0289	6,9789	2,0098	2,0079
Aguadulce	7,0654	7,0604	7,0554	6,0554	0,0953
Aguadulce	7,0693	7,0643	2,0841	0	0
Muchamiel	7,1891	5,0004	1,3001	0,2481	0,1302
Muchamiel	7,1100	2,0080	0,5492	0	0
Muchamiel	7,0673	1,4891	0,2345	0	0
Extra PGV	7,0045	7,0045	7,0045	0	0
Extra PGV	7,0081	6,8181	5,0841	1,0781	0
Extra PGV	7,0921	5,0831	4,0056	2,3080	0
Contender	7,0014	2,1135	0,0842	0	0
Contender	7,0211	2,4078	0,2555	0	0
Contender	7,0057	2,3467	0,8900	0,1780	0
Mina	7,1206	3,1126	2,0034	1,849	0
Mina	7,0978	3,0842	3,0081	0	0
Mina	7,0203	3,2808	3,0008	2,2431	0
Oro	7,0911	4,5627	2,6144	0,5492	0,0641
Oro	7,0322	3,4370	1,1206	0	0
Oro	7,0012	2,3467	1,3067	0	0

Annexe II : Test de l'anova hiérarchique pour le taux de germination du maïs.

	. Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
sp	1	272.2	272.22	1.0208	0.33226 *
sp:var	4	4088.9	1022.22	3.8333	0.03126
Residuals	12	3200.0	266.67		

Annexe III : Test de Newman et Keuls pour le taux de germination du maïs.

TG groups		
Fève:agd	60.00000	a
Haricot:cont	53.33333	a
Haricot:oro	40.00000	a
Haricot:min	30.00000	a
Fève:gv	23.33333	a
Fève:much	16.66667	a

Annexe IV : Test de l'anova hiérarchique pour la biomasse aérienne des différentes variétés.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
sp	1	6.4692	6.4692	37.9519	4.868e-05 ***
sp:var	4	6.2286	1.5571	9.1351	0.001259 **
Residuals	12	2.0455	0.1705		

Annexe V : Test de Newman et Keuls pour la biomasse aérienne des différentes variétés.

BA groups		
Fève:much	2.5486667	a
Fève:agd	0.8316667	b
Fève:gv	0.7460000	b
Haricot:cont	0.2470000	b
Haricot:min	0.1550000	b
Haricot:oro	0.1273333	b

Annexe VI : Test de l'anova hiérarchique pour la biomasse racinaire des différentes variétés.

Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
sp	1 0.53561	0.53561	15.0147	0.002208 **
sp:var	4 0.34116	0.08529	2.3909	0.108731
Residuals	12 0.42807	0.03567		

Annexe VII : Test de Newman et Keuls pour la biomasse racinaire des différentes variétés.

BR groups		
Fève:much	0.73766667	a
Fève:agd	0.42366667	ab
Fève:gv	0.40733333	ab
Haricot:cont	0.34333333	ab
Haricot:oro	0.13600000	b
Haricot:min	0.05433333	b

Annexe VIII : Test de l'anova hiérarchique pour la respiration microbienne.

Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
sp	1 43.37	43.369	87.184	7.474e-07 ***
sp:var	4 334.87	83.719	168.297	1.990e-10 ***
Residuals	12 5.97	0.497		

Annexe IX : Test de Newman et Keuls pour la respiration microbienne.

Resp groups		
much	19.066667	a
oro	17.600000	b
gv	14.373333	c
cont	11.513333	d
agd	10.413333	d
min	5.426667	e

Annexe X : Test de l'anova hiérarchique pour l'activité de la catalase.

Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
sp	1 0.12500	0.125000	11.25	0.005736 **
sp:var	4 0.82667	0.206667	18.60	4.426e-05 ***
Residuals	12 0.13333	0.011111		

Annexe XI : Test de Newman et Keuls pour l'activité de la catalase.

CAT groups		
Haricot:min	0.9333333	a
Haricot:oro	0.5333333	b
Fève:gv	0.5000000	b
Fève:agd	0.4333333	bc
Fève:much	0.2666667	c
Haricot:cont	0.2333333	c

Annexe XII : Test de l'anova hiérarchique pour le poids des vers de terre.

Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
esp	5 1149239	229848	1.0822	0.418
Residuals	12 2548749	212396		

Annexe XIII : Test de l'anova hiérarchique pour le taux de mortalité des vers de terre.

Response: TM				
Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
esp	5 2222.2	444.44	1.2001	0.366
Residuals	12 4444.2	370.35		

Annexe XIV : Test de l'anova hiérarchique pour la quantité des hydrocarbures.

Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
sp	1 90454	90454	0.2556	0.6224
sp:var	4 2330241	582560	1.6458	0.2266

Annexes

Residuals 12 4247502 353958

Résumé

Le présent travail a pour objectifs de tester l'efficacité de quelques variétés de deux espèces légumineuses (fève et haricot) dans la décontamination d'un sol contaminé par les hydrocarbures par le biais de l'évaluation des paramètres biologiques.

Les résultats obtenus ont montré que les variétés de la fève ont résisté plus que les variétés d'haricot à la pollution du sol par les hydrocarbures.

La diversité variétale des deux espèces ne présente pas un grand effet sur la phytoremédiation des sols contaminés.

Les mots clés : hydrocarbures, phytoremédiation, variétés, fève, haricot.

Abstract:

The present work aims to test the effectiveness of some varieties of two leguminous species (broad bean and bean) in the decontamination of soil contaminated by hydrocarbons through the evaluation of biological parameters.

The results obtained showed that the broad bean varieties were more resistant than the bean varieties to soil pollution by hydrocarbons.

The plant diversity of the two species does not have a great effect on the phytoremediation of contaminated soils.