

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

THÈME

**Etude de l'apport des margines sur la
microflore totale et des levures et moisissures
du sol**

Présenté par :

DEBBAL MOHAMMED AMOKRANE

SI AMMOUR YACINE

Présidente : Mme BENAHMED DJILALI A. Professeur à l'UMMTO

Promotrice : Mme DERMECHE S. MCB à l'UMMTO

Examinatrice : Mme OUSSAID S. MCB à l'UMMTO

Promotion 2020 /2021

Remerciements

On remercie dieu qui nous a donnés la force pour réaliser ce travail

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre reconnaissance à la Directrice de ce mémoire, **Dermeche S**, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion et qui fut la première à nous faire découvrir le sujet et qui a guidé le présent travail.

Nos vifs remerciements s'adressent aux membres du jury qui ont acceptés d'évaluer notre travail : Mme Benahmed Djilali A., Professeur à l'UMMTO et Mme Oussaid S. Maître de conférences B à l'UMMTO

Nous tenons à remercier spécialement Madame **Sabah** qui nous a apporté son aide moral et intellectuel tout au long de notre expérimentation.

A la mémoire de Madame Boudiaf,

Ce modeste travail qui a été entrepris à l'aide de **Madame Boudiaf**, est dédié à sa mémoire. Elle a participé elle-même à sa réalisation avant son décès brutal, en août 2021. Madame **Boudiaf**, était Professeur à l'UMMTO, une femme de principe qui croyait en l'étudiant et en sa capacité de prendre en main l'avenir. Elle cherchait toujours à aider l'étudiant et à répondre à un problème donné. C'est pour cela qu'elle voulait que nous réalisions ce travail et nous espérons avoir été fidèles à son objectif.

Que Dieu l'accueille en son vaste paradis

Dédicaces

Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu,

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère maman **Nadia. B**

A mon très cher père **Mokrane**

Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployés pour mon éducation et ma formation. Je vous aime et j'implore le tout-puissant pour qu'il vous accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A mes chers grands parents **Ammar & Dahbia**

A tous les moments d'enfance passés avec vous. Paix à vos âmes

A mes chères sœurs **Fadhila DehbiaTassadit**

En particulier à ma sœur **Dehbia** en gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté pour réaliser ce travail

A mes chers frères

Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

A mes nièces **KaMélia, Mariam**

A TOUTE MA FAMILLE

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

A mon ami **Ali .I**

En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Dédicaces

Aux êtres les plus chères : ma famille,

« Que vos âmes reposent en paix ». A la mémoire de **MA GRAND MEREPATERNELLE** ainsi que ma TANTE **NADIA** et mon ONCLE **KAMEL** qui vient de nous quitter il y a quelques jours, le destin ne m'a pas laissé le temps pour jouir de ce bonheur avec vous et pour cueillir vos bénédictions interminables. Aujourd'hui vous n'êtes pas là mais pour toujours vous demeurerez dans mon cœur. Rien au monde ne peut décrire mon grand désarroi. Puisse Dieu tout puissant vous accorder sa clémence, sa miséricorde et vous accueillir dans son saint paradis.

A **ma mère**, pour la tendresse et le grand amour dont vous m'entourez, pour votre soutien et prières, vous m'avez toujours épargné de toutes sortes de contraintes à même absorber mon stress. Jamais je ne trouverais des mots pour exprimer ma profonde affection et mon grand amour.

A **mon père**, dont la vie est l'exemple du courage, de dévouement, d'honnêteté, du sacrifice et de militance. Vous m'avez tellement supporté et soutenu tout au long de mon parcours d'étude. Je vous fais le témoignage de mon profond amour, ma gratitude pour les sacrifices que vous m'avez faits afin que je puisse achever mes études dans les meilleures conditions.

A mon frère **TOUFIK** et ma **petite sœur AMIRA**, je vous remercie énormément et j'espère que vous trouverez dans ce mémoire l'expression de mon affection pour vous.

YACINE

Liste des abréviations

DBO : demande biologique en oxygéné

DCO : demande chimique en oxygène

DBO5 : demande biochimique en oxygène

GN : gélose nutritive

M : margines

M50 : margines 50%

M100%: margines 100%

PDA: Potato dextrose agar

S1 : Sol 1 cultivé

S2 : Sol 2 cultivé

S3 : Sol 3 cultivé

S4 : Sol 4 non cultivé

Liste des tableaux

Tableau I. Caractéristiques physicochimiques des margines	12
<u>Tableau II. Caractéristiques biologiques des margines.....</u>	13
Tableau III. Composition minérale des margines	14
Tableau IV. Activités biologiques des polyphénols des margines.....	16

Liste des figures

Figure 1. Différentes formes de bactéries.	4
Figure 2. Aspect des colonies d'actinomycètes.....	5
Figure 3. Différents champignon du sol.....	6
Figure 4. Les trois principales espèces d'algues.....	7
Figure 5. Zone des oliveraies desquelles sont issues les margines.	19
Figure 6. Aspect des margines.	20
Figure 7. Situation géographique du lieu d'échantillonnage du sol 4 (S4).	20
Figure 8. Semences d'orge (<i>Hordeum vulgare</i> L. var. fouara).....	21
Figure 9. Préparation des pots pour la croissance de l'orge en présence des margines	21
Figure 10. Aspect des différentes suspensions mères	22
Figure 11. Résultats du dénombrements de la microflore totale dans le sol cultivé (S1) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau.	24
Figure 12. Résultats du dénombrements de la microflore totale dans le sol cultivé (S2) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau	25
Figure 13. Résultats du dénombrements de la microflore totale dans le sol cultivé (S3) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau.	25
Figure 14. Résultats du dénombrements de la microflore totale dans le sol cultivé (S4) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau	26
Figure 15. Résultats du dénombrements de la microflore totale dans le sol non cultivé (S4) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau.....	26
Figure 16. Résultats du dénombrements des levures et moisissures dans le sol cultivé (S1) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau.....	28

Figure 17. Résultats du dénombrement des levures et moisissures dans le sol cultivé (S2) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau.....	28
Figure 18. Résultats du dénombrement des levures et moisissures dans le sol cultivé (S3) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau.....	29
Figure 19. Résultats du dénombrement des levures et moisissures dans le sol cultivé (S4) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau.....	29
Figure 20. Résultats du dénombrement des levures et moisissures dans le sol non cultivé (S4) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau.....	30

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumé	
Introduction générale.....	1
Première partie. Synthèse bibliographique	
Chapitre I. Le sol, une ressource dynamique vivante	
Introduction	3
1. Définition	3
2. Microorganismes du sol	3
2.1. Bactéries	4
2.2. Actinomycètes	5
2.3. Les champignons	5
2.4. Algues	7
3. Fonctionnement microbiologique du sol	7
4. Réseaux trophiques du sol	8
5. Interactions entre les microorganismes et les plantes	9
5.1. Interactions non symbiotiques	9
5.2. Interactions symbiotiques	9
5.2.1. Symbioses mycorhiziennes.....	10
5.2.2. Symbioses fixatrices d'azote.....	10
6. Mycorhizes comme élément d'explication de la diversité végétale	10
Chapitre II. Généralités sur les margines	12

Introduction	12
1. Caractéristiques physicochimiques des margines	12
1.1. Fraction minérale	13
1.2. Fraction organique	13
2. Caractéristiques biologiques	14
2.1. Microflore des margines.....	14
2.2. Demande biologique en oxygène	14
3. Composés phénoliques.....	15
4. Valorisation agricole des margines	17
Deuxième partie. synthèse expérimentale	19
1. Matériel.....	19
1.1. Matériel biologique.....	19
1.1.1. Margines	19
1.1.2. Echantillons de sol.....	20
1. Méthodes.....	21
1.1. Présentation du dispositif expérimental.....	21
2. Dénombrement des microorganismes des sols arrosés avec les margines.....	22
2.1. Préparation des suspensions mères.....	22
2.2. Dénombrement de la microflore totale du sol	23
2.3. Dénombrement des levures et des moisissures du sol.....	23
1. Résultats et discussion	24
1.1. Effet des margines sur la microflore totale des sols étudiés.....	24
1.2. Effet des margines sur les levures et les moisissures des sols étudiés	27
Conclusion	
Références	33
Annexes.....	41

Résumé

Les margines sont des sous-produits du procédé d'extraction de l'huile d'olive, leurs déversements dans la nature, sans aucun prétraitement préalable, constituent un problème pour l'environnement à cause de leur toxicité qui est liée à la composition phénolique. L'épandage sur les terres agricoles est une alternative intéressante de valorisation pour les margines. Cette solution étant peu coûteuses par rapport aux autres techniques biotechnologiques ou physicochimiques (El Hassani et *al.* 2020). Cependant, l'épandage agricole de ces effluents, doit être contrôlé et maîtrisé en respectant les doses à appliquer. En effet, une réticence envers cette technique demeure jusqu'à nos jours, pour des craintes d'éventuelles incidences négatives sur le sol. Ainsi, l'objectif du présent travail est d'étudier l'effet des margines sur la microflore totale et des levures et moisissures du sol. Comparativement avec un sol témoin, l'impact de l'arrosage de sols aux margines sur la microflore du sol est étudié au niveau de quatre sols (S1, S2, S3, S4) différents provenant de régions différentes d'Algérie. Les résultats obtenus ont révélé que les margines n'ont aucun incident microbiologique négatif sur la microflore des sols étudiés à court terme d'arrosage.

Mots-clés : épandage, margines, microflore, sol, valorisation.

Abstract

Olive oil production industry represent a vital economic activity in several Mediterranean countries. However, olive oil extraction process is associated to huge amount of liquid by-product generation wich is named as olive mill wastewater (OMWW) and considered as a relevant environmental issue if discharged without any pretreatment. Among the valorization strategy, the agricultural spreading of OMWW is one of attractive solution, but this operation should be done under controlled conditions and respecting doses to be applied. Thus, the present work was conducted in order to study the effect of OMWW spreading one the soil total microflora and yeast and mold. Comparing to soil control, the impact of OMWW spreading had been studied on four different soils (S1, S2, S3, S4) collected from different regions in Algeria. The results obtained revealed that under short term irrigation, OMWW didn't exert a negative impact on the soil microflora.

Keywords: spreading, olive mill wastewater, microflora, soil, valorization.

Les margines constituent les rejets liquides des industries de production de l'huile d'olive. Elles proviennent pour 40 à 50 % du fruit et le reste est formé par les quantités d'eau utilisées pour le lavage des olives et leur trituration. Ces effluents sont très acides (pH compris entre 4,5 et 5,2) et très salines (conductivité électrique située entre 8 et 16 dS/m). Elles présentent un grand pouvoir polluant des cours d'eau, dû surtout à leur couleur et leur concentration élevée en matières organiques et en polyphénols (JIMENEZ, 1986). Différentes recherches ont démontré que l'épandage des margines avait des répercussions agronomiques défavorables, liés essentiellement à la teneur élevée en substances phénoliques non facilement biodégradables. Cependant, l'effet de l'épandage des margines sur l'activité microbienne du sol, est un problème à propos duquel existe une grande confusion et des divergences d'opinion, en raison essentiellement, de la différence des doses appliquées, des conditions édaphiques (texture du sol) et climatiques. Toutefois, plusieurs microorganismes du sol peuvent utiliser la matière organique comme celle des margines comme seule source de carbone (NEFZAOUI et ZIDANI, 1987). D'un autre côté, plusieurs chercheurs ont noté une diminution de la capacité d'adaptation de certains microorganismes du sol en présence des margines (MORENO et *al.* 1987).

Bien que certains chercheurs notaient une augmentation de l'activité microbienne du sol lors de l'épandage des margines, d'autres signalaient une diminution du nombre de certaines bactéries du sol. Les travaux menés au champ afin d'élucider les incidences environnementales *in situ* sont quasi-inexistants. De même, les résultats sur les effets inhérents à l'activité microbiologique du sol demeurent controversés et n'ont pas précisé le devenir des polyphénols des margines. De ce fait, on se propose à travers ce travail mené *in vitro* d'apporter quelques éléments de réponse.

La première partie de ce manuscrit est consacrée à une synthèse bibliographique qui rassemble des données essentielles sur :

- les caractéristiques microbiologiques du sol ainsi que les interactions entre les microorganismes du sol et la plante ;
- les généralités sur les margines ainsi que leur valorisation agronomique.

La deuxième partie constitue l'étude expérimentale traitant l'impact des margines sur la microflore de différents sols, tout en détaillant l'ensemble des protocoles et matériel utilisés, suivi par la présentation des résultats et de leur discussion qui s'achève par une conclusion.

Première partie
Synthèse bibliographique

Chapitre I

Le sol, une ressource dynamique vivante

Introduction

Le sol est loin d'être un substrat inerte, est un milieu dynamique et complexe grâce, particulier aux microorganismes qui l'habitent (Gobat, 2003). Ces derniers constituent un des maillons du cycle biologique et l'étude de leur nature, de leur nombre, de leurs effets, est un élément nécessaire pour la connaissance de la microflore du sol, son évolution et sa fertilité. En effet, cette microflore effectue une variété d'activités requises pour le bon fonctionnement du sol comme système dynamique (Kalia et Gosal, 2011). Tout changement dans la biomasse microbienne du sol peut avoir un impact sur ses fonctions importantes dans ce dernier.

L'activité biologique demeure une composante essentielle de la fertilité dans le sol en agissant d'une part, sur le stock d'éléments minéraux assimilables obtenues par minéralisation de la matière organique et d'autre part, sur la structure du sol (Troeh et Thompson, 2005). Les microorganismes présentent des modèles pertinents pour leur très grande diversité taxonomique et métabolique ainsi que pour leurs rôles essentiels dans la régulation des cycles biogéochimiques et de la productivité végétale (Duchaufour, 2001).

1. Définition

Le sol est la partie superficielle de la croûte terrestre, c'est l'interface entre l'atmosphère, l'hydrosphère, la lithosphère et les organismes vivants. Il présente un milieu polyphasique composé d'une phase solide (minéral et organique), d'une phase liquide et d'une phase gazeuse, colonisé par des microorganismes vivants (Piotrowska et Długosz, 2012). Le sol a de nombreuses fonctions, il est un milieu biologique dans/et sur lequel se développent des êtres vivants. Ce développement va dépendre de la qualité du sol ou fertilité (quantité de carbone, d'azote, capacité d'échange cationique, etc...). Il est aussi un acteur déterminant du cycle d'eau (stockage et régulation) et de la qualité de cette eau. A cet effet, le sol joue aussi un rôle prédominant dans les cycles biogéochimiques (Quena, 2004).

2. Microorganismes du sol

Les microorganismes sont par définition des êtres vivants microscopiques pour la plupart unicellulaires. La majeure partie de ces organismes appartient au règne procaryote, bactéries et archea, mais sont aussi représentés chez les eucaryotes comme les protozoaires et les fungi. Les bactéries, les champignons et les actinomycètes représentent l'essentiel de la biomasse microbienne du sol (Lavelle et Spain, 2001).

2.1. Bactéries

Ce sont des procaryotes unicellulaires de formes très diverses leur taille varie de 0,3 à 3 ppm. Leur classification était habituellement basée sur des critères phénotypiques incluant par exemple la morphologie des cellules (Bâtonnets, cocci, bacilles...), la structure de la paroi cellulaire (gram positif, gram négatif), la présence d'endospores, la mobilité des cellules et la position des flagelles (Lavelle et Spain, 2001) et aussi sur des groupes nutritionnels (hétérotrophe et autotrophe). Cependant, c'est la classification en groupe fonctionnel qui est souvent préférée, parce qu'elle donne plus d'information, elle divise les bactéries en 4 groupes selon la source d'énergie utilisée (énergie lumineuse ou des réactions redox) et la nature du donneur d'électron (organique ou minéral) : les photolithotrophes, les photoorganotrophes, les chémo-lithotrophes et les chémo-organotrophes. (Lavelle et Spain, 2001).

Les bactéries hétérotrophes constituent le type dominant dans le sol par leur consommation et minéralisation des matières organiques. Les bactéries interviennent dans un grand nombre de processus et d'interactions mutualistes ou antagonistes avec les autres organismes du sol. Elles jouent un rôle fondamental dans le cycle de l'azote (ammonification, nitrification, dénitrification, fixation symbiotique du N₂), du carbone (décomposition et minéralisation), du phosphore, du soufre et dans le recyclage des déchets et des polluants comme les pesticides (Leung et *al.* 1997). Elles interviennent également dans le maintien de la structure du sol par la formation des agrégats.

:

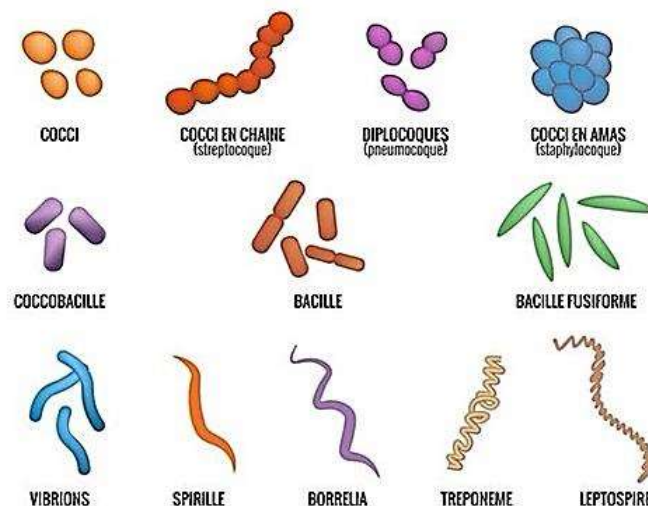


Figure 1. Différentes formes des cellules bactériennes (Bergey, 1988 ; Aloui, 2014).

2.2. Actinomycètes

Ce sont des microorganismes filamenteux hétérotrophes présentant des similitudes avec les champignons et les eubactéries. Ils ont l'aspect filamenteux et la capacité de sécréter des antibiotiques (Stolp, 1988) ainsi que la possibilité d'effectuer de très nombreuses réactions biochimiques. Leur nombre est d'un à cent million par gramme de terre, et leur poids total est d'environ une tonne par hectare (voir la figure 02).

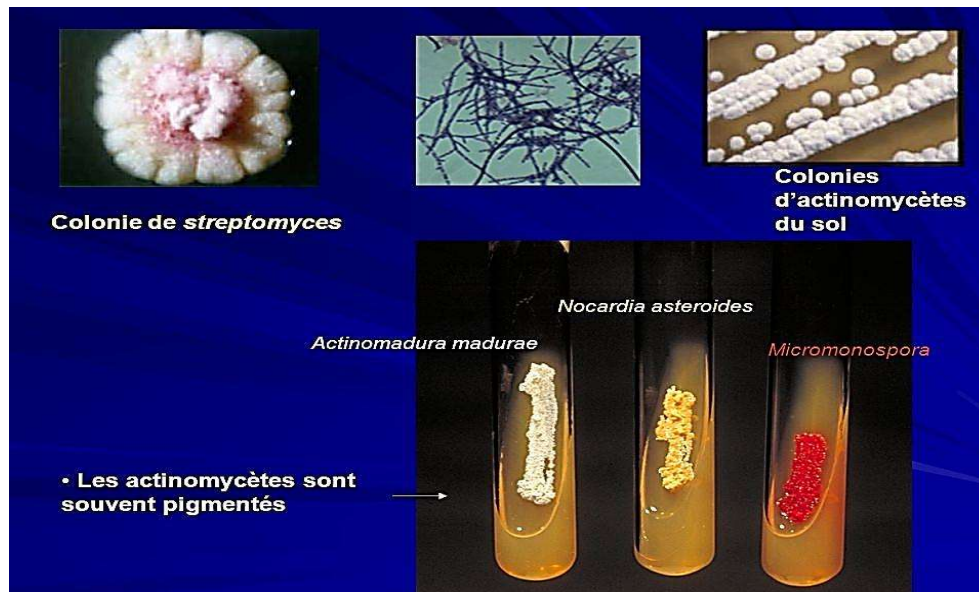


Figure 2. Aspect des colonies d'actinomycètes (Bergey, 1989).

Les actinomycètes sont des décomposeurs primaires des matières organiques résistantes comme l'écorce, les feuilles et les tiges. Ils sont particulièrement efficaces dans la dégradation de la cellulose, de la chitine et de la lignine. Les espèces du genre *Frankia* forment des symbioses fixatrices d'azote en association avec casuarinacées et d'autres plantes supérieures (Stalop, 1988 ; Lavelle et Spain, 2001).

2.3. Les champignons

Les champignons du sol ou mycètes sont des levures, des champignons supérieurs et surtout des moisissures des genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Mucor*, *Trichoderma*. Ils peuvent être définis comme des microorganismes hétérotrophes filamenteux et immobiles, mais l'hétérotrophie est la règle générale, les autres critères ne sont pas absolus (Sablonnier, 2002), la figure 3 illustre les différentes formes des champignons du sol.

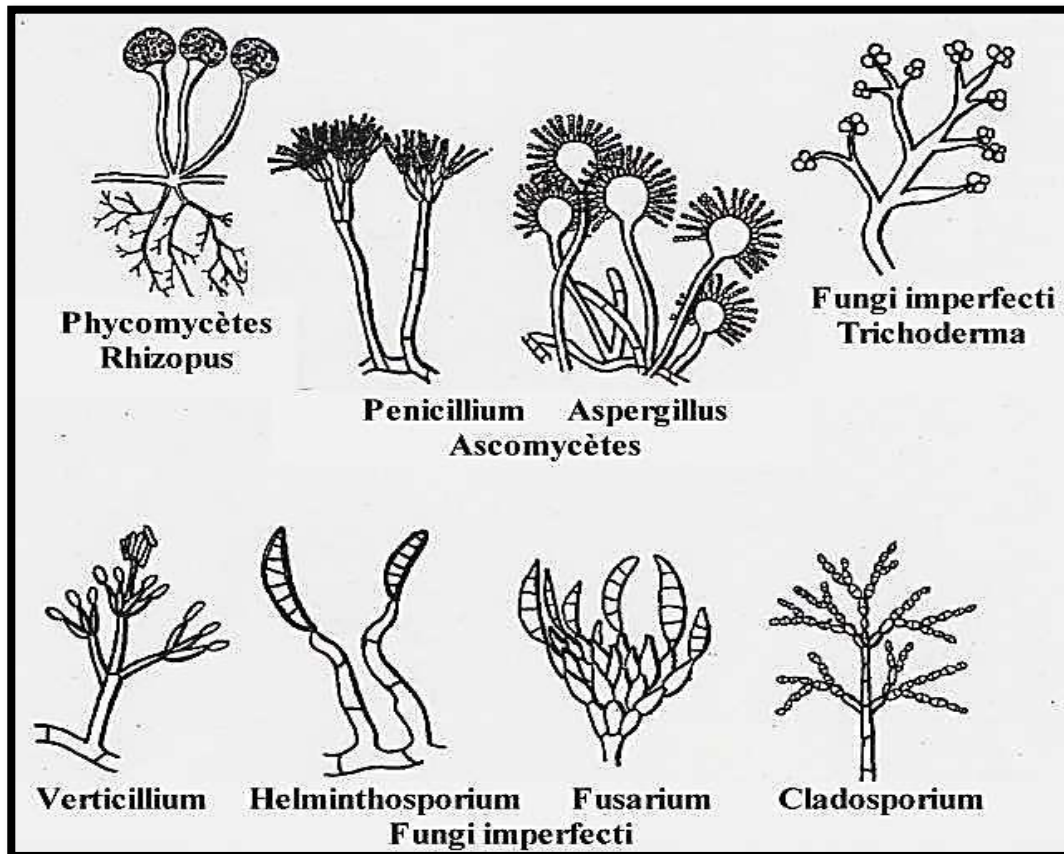


Figure 3. Différents champignons du sol (Domergue et Mangent, 1970).

La plupart des eumycètes ont une paroi chitineuse et leur organe reproducteur est dépourvu de flagelles. Les eumycètes sont constitués de quatre principaux groupes qui sont différents par leur organe reproducteur survivant dans le sol : les Zygomycètes, les Ascomycètes, les basidiomycètes et les deutéromycètes (Lavelle et Spain, 2001). La majorité des grands groupes taxonomiques de champignons sont tous hébergés dans le sol (Thorn, 1997). Elles présentent une grande diversité, des études estiment le nombre d'espèces à 1.5 million approximativement (Hawks et Mond, 1997).

Les champignons sont souvent dominants dans les sols naturels en termes de biomasse (Schnurer et *al.* 1986). Ils jouent des rôles très importants dans les cycles des nutriments du sol (Bloem et *al.* 1994, Thron, 1997) notamment dans la décomposition de la matière organique. Ils interviennent dans un grand nombre d'interactions mutualistes (mycorhizes, champignons-termites) et ont une part importante dans plusieurs relations commensales et compétitives avec les autres organismes du sol. Les champignons jouent un rôle important dans le recyclage des

déchets, des sécrétions chimiques et excréments des racines des plantes, des animaux et des microorganismes (Deruiter et *al.* 1999).

2.4. Algues

Les algues regroupent des formes extrêmement variées, de taille divers, depuis les organismes unicellulaires microscopiques jusqu'aux algues marines qui peuvent atteindre 30m de long. La figure 4 illustre les trois principales espèces d'algues.



Figure 4. Les trois principales espèces d'algues

Algue brune (gauche) ; algue rouge (au centre) ; algue verte (droite) (Tremblay, 2002).

Leur classification est fondée sur la composition des pigments et de la paroi cellulaire. Les formes terrestres sont essentiellement des Chlorophycées, Euglénophycées (aussi considérées comme des protozoaires) et des chrysophycées (diatomées). Les algues en raison de leur caractère photosynthétique, ont une signification différente des autres microorganismes du sol, alors que les bactéries et les champignons sont principalement des agents de décomposition et de minéralisation, les algues sont des producteurs primaires (stolp, 1988).

Les algues unicellulaires et filamenteuses ont un rôle important comme producteurs primaires dans les sols désertiques et les sols émergés. Par les mucilages qu'elles produisent et par l'action mécanique des filaments, elles ont un rôle important dans l'amélioration de la structure des sols exondés dont elles augmentent l'agrégation (Lavelle et Spain, 2001).

3. Fonctionnement microbiologique du sol

Les relations entre les microorganismes et aussi avec les organismes eucaryotes comme les nématodes, les plantes et les animaux et avec les composants abiotiques de l'environnement

constituent la base de l'écologie microbienne dans le sol (Trevors et Elsas, 1997). Elles constituent les moteurs des différents processus qui se déroulent dans le sol. Ils ont un rôle majeur dans la décomposition de la matière organique, contribuent un recyclage des nutriments et facilitent l'absorption des éléments par les racines. Ils sont également impliqués dans la structuration des sols et leur dépollution (Innov-agri, 2017).

4. Réseaux trophiques du sol

Un réseau trophique est défini comme une chaîne d'interactions consommateurs-ressources entre différents groupes fonctionnels d'organismes (Bloem et *al.* 1994). Dans le sol, les réseaux trophiques incluent les microorganismes (bactéries et champignons principalement), les protistes, nématodes et quelques acariens. Les microorganismes, en particulier les bactéries, sont fréquemment impliqués dans une multitude d'interactions non génétiques avec d'autres microorganismes, notamment au niveau de la rhizosphère. Ces interactions sont souvent nutritionnelles. Un microorganisme dépend d'un autre microorganisme pour la dégradation de produits ou de substrats spécifiques, ou différents microorganismes sont en compétition pour le même substrat (Trévors, et Elsas, 1997).

En effet, les débris de matières organiques qui tombent au sol sont consommés par des êtres vivants que l'on appelle des décomposeurs. Ils se nourrissent des molécules organiques qu'ils dégradent et rejettent dans les excréments des éléments minéraux qui sont des déchets de leur métabolisme. Les décomposeurs jouent donc un rôle essentiel dans la minéralisation de la matière organique du sol. Les premiers à intervenir dans ce processus sont les bactéries et les champignons, qui colonisent les cadavres et les déchets végétaux. D'autres décomposeurs sont des animaux comme les collemboles, qui se nourrissent aussi directement de matière organique végétale morte et mangent les champignons et bactéries. Ils rejettent à leur tour des éléments minéraux dans leurs excréments et participent au recyclage de la matière organique du sol. Ces décomposeurs nourrissent eux-mêmes un grand nombre de prédateurs du sol : carabes, pseudo scorpions, araignées, taupes et sont donc à la base des réseaux trophiques du sol (Thomas, 2019).

Les interactions entre les populations microbiennes peuvent être reconnues comme des interactions négatives (compétition, amensalisme), positives (commensalisme, synergique et mutualisme), ou positives pour l'un et négatives pour l'autre population (parasitisme ou prédation). De nombreux exemples montrent l'existence de tous ces types d'interactions entre les populations microbiennes dans les sols. L'inhibition des champignons pathogènes *Gaeumannomyces graminis* des racines du blé par *Pseudomonas fluorescens*, due à la

production in situ d'antibiotique du type phénazine (Thomashow et *al.* 1990), est un exemple d'interaction amensale entre microorganismes.

5. Interactions entre les microorganismes et les plantes

5.1. Interactions non symbiotiques

L'interface entre le sol et les racines est un habitat très dynamique. Dans la masse de sol environnante, la croissance et la prolifération des microorganismes sont limitées par un déficit de carbone et d'énergie. Par contre, la libération continue de nutriments organiques dans la rhizosphère stimule l'activité et la multiplication des microorganismes (Atlas et Bartha, 1993 ; Olsson et Alstrom, 2000), des densités de l'ordre de 10^9 UFC g⁻¹ de sol sec y est détectée (Tate, 1995).

Le développement de la communauté rhizosphérique a une variété d'impact direct ou indirect sur la production de biomasse de la plante (Tate, 1995). Beaucoup de bactéries qui colonisent la rhizosphère produisent des composés organiques qui permettent le développement du système racinaire des plantes. Elles sont responsables du recyclage et de la solubilisation des éléments minéraux (azote, phosphore, calcium), de la synthèse des vitamines, des acides aminés, des auxines lesquels stimulent la croissance des plantes (Tate, 1995 ; Lavelle et Spain, 2001) ou bien d'autres substances qui peuvent inhiber les organismes pathogènes des plantes (Glick, 1995). Les effets indirects résultent de l'effet de la communauté microbienne rhizosphérique sur la structure du sol. En effet, les microorganismes produisent des polysaccharides qui cimentent les particules minérales du sol à l'intérieur des agrégats. L'amélioration de la structure du sol, par l'augmentation de l'agrégation, aboutit à l'amélioration de l'aération du sol, à l'infiltration de l'eau et à la pénétration des racines (Tate, 1995).

Certains microorganismes en particulier les bactéries et les champignons peuvent envahir les tissus des racines, où elles peuvent provoquer de nombreuses maladies (Sorensen, 1997). Ces maladies apparaissent chez les plantes sous forme de nécrose, de pourritures, de troubles vasculaires, de tumeurs et ou de lésions.

5.2. Interactions symbiotiques

En plus des interactions avec les microorganismes dans la rhizosphère, les racines des plantes établissent des relations symbiotiques spécifiques avec certains microorganismes du sol. Deux types d'associations ont fait l'objet d'un grand nombre d'étude, il s'agit des associations mycorhiziennes et des symbioses fixatrices d'azote (Shrivastava et Kumar, 2015).

5.2.1. Symbioses mycorhiziennes

Les mycorhizes sont des associations bénéfiques entre les racines des végétaux et les filaments mycéliens des champignons supérieurs. Cette association améliore la nutrition minérale (principalement phosphore) de la plante, alors qu'elle fournit au champignon hétérotrophe des assimilants photosynthétiques qu'ils ne peuvent pas obtenir dans le sol. Il existe trois types de mycorhizes, définies selon des critères morphologiques et cytologiques : les ectomycorhizes, les endomycorhizes et les ectendomycorhizes (Shrivastava et Kumar, 2015).

5.2.2. Symbioses fixatrices d'azote

Deux groupes de bactéries ont été identifiés comme fixatrices d'azote en association avec les plantes supérieures. Il s'agit des *Rhizobiums* qui s'associent généralement avec les plantes légumineuses et d'autres espèces aussi (des papilionacées, des mimosacées, césalpiniciées) et des Frankias, bactéries filamenteuses sporulantes associées à des plantes dites actinorhiziennes comme les Casuarinacées (Shrivastava et Kumar, 2015). Ce sont des associations spécifiques, puisqu'elles impliquent un système de reconnaissance mutuelle entre les deux partenaires. La plante exsude dans le milieu des flavonoïdes qui activent les gènes de la nodulation des bactéries, provoquant la synthèse d'une molécule signal. Cette dernière déclenche chez la plante des processus qui permettent la pénétration des bactéries dans la racine et la formation de nodules (Garcia et Nahas, 2012). Les *Rhizobiums* qui s'installent dans les cellules se différencient en bactéroïdes, et synthétisent la nitrogénase, l'enzyme qui catalyse la fixation de l'azote de l'air. Dans le cas des symbioses actinorhiziennes, les hyphes de *Frankia* qui pénètrent dans les cellules végétales, se différencient en vésicules, siège de la synthèse de la nitrogénase (Normand et al. 2000). Les symbioses fixatrices de l'azote sont extrêmement importantes dans le maintien de la fertilité de sol, elles sont utilisées dans les pratiques agricoles pour augmenter les rendements des cultures (Atlas et Bartha, 1993).

6. Mycorhizes comme élément d'explication de la diversité végétale

Des expériences avec des plantes et des champignons à mycorhizes à arbuscules ont montré que la diversité des champignons dans un réseau mycélien favorisait par synergie la coexistence et la diversité des espèces végétales, par rapport à un système avec une faible diversité de champignons (Piotrowska et Długosz, 2012). En outre, l'augmentation de la complémentarité d'utilisation des ressources, une grande diversité fongique peut améliorer

l'échange des nutriments, améliorer l'acquisition globale des nutriments par les plantes et promouvoir la productivité primaire.

Les expériences avec les plantes ectomycorhizées n'ont révélé aucun effet de la diversité fongique sur les performances de l'hôte ou les services éco systémiques, malgré certaines preuves de répartition des sources de phosphore organique et une forte complémentarité fonctionnelle entre les espèces fongiques. Cependant, l'absence de tels effets peut être liée à l'étude des semis sur une courte période (Djigal, 2003).

Les différences de diversité végétale entre les habitats dominés par ces deux types de mycorhizes sont aussi liées à la rétroaction plante-sol. Étant donné que les plantes à mycorhizes à arbuscules sont relativement vulnérables aux attaques et accumulent les pathogènes transmis par le sol, il se produit une certaine régulation par ces pathogènes, ce qui contribue à réduire les espèces dominantes et contribue ainsi à la grande diversité végétale dans les communautés dominées par des mycorhizes arbusculaires. À toutes les échelles géographiques, les communautés végétales dominées par des systèmes ectomycorhizés ont tendance à être moins diversifiées que les communautés dominées par des systèmes arbusculaires. Quatre mécanismes - accès aux nutriments organiques, accumulation de matières organiques et de composés allopathiques et rétroaction positive entre plantes et sols - agissent en synergie dans les communautés végétales dominées par les plantes ectomycorhizées pour maintenir la mono dominance communautaire sur plusieurs générations (Djigal, 2003).

Chapitre II

Généralités sur les margines

Introduction

La production de l'huile d'olive est une activité agro-industrielle importante dans de nombreux pays méditerranéens ((Mateo et Maicas, 2015). Le traitement des olives produit de grandes quantités de résidus : un résidu très humide, appelé "grignon d'olive", et un effluent liquide appelé "eaux de végétation ou margines. Ces dernières sont générées au cours des différentes étapes de production d'huile d'olive suite à l'utilisation de l'eau (Moreno et *al.* 2017).

1. Caractéristiques physicochimiques des margines

Les margines sont caractérisées par une couleur foncée et une odeur d'huile d'olives. Leur composition dépend de différents paramètres tels que (El-Bassi et *al.* 2021) :

- la variété d'olive ;
- les conditions pédoclimatiques ;
- les procédés d'extraction de l'huile.

Elles présentent une composition chimique très complexe et hétérogène. Elles contiennent une variété de composés organiques et minéraux, de nature et de concentration très différente (Fiorentino et *al.* 2003). En effet, elles sont riches en matières organiques, plus particulièrement les composés phénoliques, et contiennent aussi des particules solides en suspension.

Elles sont caractérisées par un pH acide compris entre 4,2 et 5,9 (Lamraoui, 2018), et une salinité élevée exprimée en conductivité électrique (18 à 50 mS/cm) (Amirante et Montervinodue, 1996). Elles sont riches également en ions potassium, chlorure, calcium et magnésium (Fiestas et *al.* 1992). Le tableau I résume les caractéristiques physico-chimiques des margines et leur valeur.

Tableau I. Caractéristiques physico-chimiques des margines (Fiestas et *al.* 1992).

Paramètres	Valeurs
pH	4,2 à 5,9
Turbidité (NTU)	140
Couleur	coloration brune-rougeâtre
Conductivité	18 et 50 ms.cm ⁻¹
Temperature	Ambiante

Les études menées sur les margines peuvent nous renseigner sur les intervalles de variation de leurs différents composants chimiques (Obied et *al.* 2005), on y trouve essentiellement l'eau (83-88%), les substances organiques (10-15 %) et les substances minérales (1.5-2%) (Sancoucy, 1984).

1.1. Fraction minérale

Les margines contiennent des quantités significatives en sels minéraux (Kestioglu, 2005), dont 80% sont solubles (phosphates, sulfates et chlorures) et 20% sont insolubles (carbonates et silicates) (Ranalli, 1991). La fraction minérale a été rapportée par Salvemini, (1985) dans le tableau suivant :

Tableau II. Composition minérale des margines (Salvemini, 1985).

Eléments	Concentrations mg/L
Phosphore (PO_4^{2-})	800,6
Chlore (Cl)	270,2
Sulfate (SO_4^{2-})	16,68
Sodium	5370,9
Potassium	15295,5
Calcium	1167,6
Magnésium	410,3
Fer	103,4
Aluminium	8,34
Chrome	0,66
Nickel	3,36
Cobalt	1,33
Manganèse	1,66
Cadmium	0,83
Zinc	10,0

1.2. Fraction organique

La matière organique des margines est constituée de polysaccharides (13-53%), de protéines (8-16%), de composés phénoliques (2-15%), de lipides (1-14%), de polyalcools (3-10%) et des acides organiques (3-10%) (Fiestas et Borja, 1992). Cette composition résulte de la destruction des tissus d'olive au cours de la trituration et de l'extraction de l'huile (Cossu et *al.* 1993 ; Al Mallah et *al.* 2000 ; Centi et *al.* 2000 ; Chamkha et *al.* 2001). Cette fraction organique présente une composition complexe et hétérogène, elle est constituée de deux fractions (Aissam, 2003) :

- une fraction insoluble constituée essentiellement de pulpes d'olives, matières en suspension et colloïdales ;
- une fraction soluble dans la phase aqueuse qui contient des sucres, lipides, acides organiques, pectines, composés phénoliques (Hamdi, 1991), vitamines et parfois des traces de pesticides (Kapellakis et *al.* 2008).

2. Caractéristiques biologiques

2.1. Microflore des margines

Dans les margines, seuls quelques microorganismes arrivent à s'y développer, il s'agit essentiellement des levures et des moisissures. Dans la plupart des cas, il y a absence de microorganismes pathogènes, à cet effet elles ne posent alors aucun problème du point de vue sanitaire (Zbakh et El-Abbassi, 2012 ; Ntougias et *al.* 2013). Le pouvoir antimicrobien des margines est lié à l'action exercée par les phénols monomériques et les pigments bruns catéchol-mélaninique (Hamdi et Ellouz, 1993). Ces derniers peuvent inhiber également l'activité des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote dans le tube digestif des ruminants en inhibant leur activité enzymatique (Hattenschwiler et Vitousek 2000). Les phénols contenus dans les margines agissent sur les bactéries en dénaturant les protéines cellulaires et en altérant leur membranes (Ranalli, 1991).

2.2. Demande biologique en oxygène

Selon El-Bassi et *al.* (2021), les margines sont généralement caractérisées par des niveaux élevés de demande chimique en oxygène (DCO) et de demande biologique en oxygène (DBO), atteignant des valeurs élevées. Les caractéristiques biologiques des margines et leur valeur sont résumées dans le tableau III.

Tableau III. Caractéristiques biologiques des margines (Lutwin et *al.* 1992).

Paramètres	Valeurs
DCO	100 à 220 kg/m ³
DBO5	100/m ³

3. Composés phénoliques

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Les composés phénoliques des margines sont très divers et leur structure est très variable. Plus de 50 différents composés phénoliques ont été identifiés dans les margines (Obied et *al.* 2005), leur teneur varie entre 3 à 5 g/l et peut dépasser 9 g/l (Rayan et *al.* 1991). Les composés phénoliques sont divisés en plusieurs catégories (Rayan et *al.* 1991) :

- les flavonoïdes : ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques (Noipa et *al.* 2011 ; Ghedira, 2005) ;
- les tannins résultants de la polymérisation des flavonoïdes (Karamac et Pegg, 2009) ;
- les acides phénoliques ;
- d'autres composés phénoliques monomériques ont été identifiés comme l'oleuropéine, le L-caféyl- glucose et l'oleuropéine aglycone (Wagner et *al.* 1981).

En 2010, Crozier a démontré que les composés phénoliques sont de plus en plus utilisés dans le domaine thérapeutique. De nombreux travaux (Beret, 2000 ; Fadil et *al.* 2003) suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires, et qu'ils agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères (Manach et *al.* 2005). Le tableau ci-dessous résume les différentes activités biologiques des polyphénols des margines (Zbakh et El-Abbassi, 2012).

Tableau IV. Activités biologiques des polyphénols des margines (Zbakh et El-Abbassi, 2012).

Composé phénolique	Activité biologique
Hydroxy tyrosol	Activité antioxydant Activité cardioprotective Activité antimicrobienne et antiviral Activité anti-inflammatoire Activité fongicide
Tyrosol	Activité antioxydant Activité anti-inflammatoire Activité cardio-protectrice Activité neuroprotective
Oleuropéine	Activité antioxydant Activité cardio-protectrice Activité neuroprotectrice Activité antiproliférative Activité anti-hypertensive Activité antimicrobienne et antivirale Activité anti-inflammatoire
Oleuropéine, aglycone	Antioxydant Neuroprotectrice Cytoprotectrice Anti-inflammatoire

Les composés phénoliques jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, les bactéries et les virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (Xia et al. 2011). Il a été rapporté que les raisins (*Vitis vinifera*) possèdent des propriétés pharmacologiques importantes, et en particulier des activités antimicrobiennes grâce à la présence de nombreux polyphénols, notamment d'acide gallique, d'acide hydroxycinnamique, de flavanols, de flavonols et de tanins (Nassiri-Asl et Hosseinzadeh, 2009). Les composés, appartenant aux acides phénoliques, les plus représentatifs

de ces effets sont les acides cinnamique et caféique qu'on les retrouve dans le thym et le téragone, ils sont particulièrement efficaces contre de nombreuses souches bactériennes, fongiques et virales (Cheng et *al.* 2008).

4. Valorisation agricole des margines

Le problème des margines se pose de plus en plus avec l'augmentation de la production de l'huile d'olives. Les quantités de margines produites de manière traditionnelle sont moins importantes que les quantités produites dans les unités modernes. Bien que la nature puisse absorber et épurer les déchets liquides tels que les margines, les quantités déversées dans la nature provoquent de graves pollutions et diminuent la qualité des sols (Mohammed, 2019).

Les substances toxiques contenues dans les margines se fixent dans les sols. Certaines de ces dernières telles que les phénols, peuvent inhiber l'activité microbienne du sol. La microflore bactérienne du sol peut être détruite suite à l'acidification du milieu. Par ailleurs, le caractère visqueux des margines entraîne la formation d'un dépôt huileux qui provoque l'imperméabilité du sol dans un premier lieu et son asphyxie par la suite (Mohammed, 2019).

En raison des caractéristiques physico-chimiques des margines, elles posent de sérieux risques environnementaux. En effet, l'élimination incontrôlée de ces effluents peut entraîner la pollution des eaux, la dégradation des sols et des émissions d'odeurs (Bargougui et *al.* 2019).

Les techniques appliquées pour l'épuration des margines (traitements physico-chimiques ou biologiques) sont complexes et coûteuses (Bargougui et *al.* 2019). Au cours des dernières décennies de nouvelles biotechnologies soit en laboratoire, soit à l'échelle pilote ont été proposées et testées pour la dépuration et la valorisation des margines, ces techniques ont pour objectif majeur d'éliminer la matière organique des margines et de réduire sa charge en composés phénoliques considérés comme toxiques (El Hassani et *al.* 2020).

Les margines peuvent être utilisées comme fertilisant, à ce sujet, de nombreux travaux ont été publiés, concernant les effets de l'épandage des margines sur des sols cultivés de céréales ou d'autres cultures annuelles (El Hassani et *al.* 2020). Des expérimentations agronomiques, menées avec des doses d'apport conforme aux règles de fertilisation, ont toutes montré un effet favorable des margines sur la fertilité des sols, car d'une part, elles ne contiennent pas de métaux lourds et de microorganismes pathogènes, et d'autre part, elles sont riches en éléments minéraux nutritifs (El Hassani et *al.* 2020).

En plus, comme elles sont constituées de matière organique, elles représentent un excellent substrat pour le développement de la microflore qui permet d'améliorer les propriétés physico-chimiques du sol (Kuznetsova et *al.* 2007). Di Giovacchino et *al.* (2002) ont fait une

étude dont le but était de contribuer à la connaissance des effets de l'épandage des margines pendant une longue période sur des sols plantés de maïs (plus de 10 ans) et de vigne (plus de 5 ans). Les résultats obtenus ont montré que pour les deux sols la productivité avait augmenté. L'emploi des margines à des doses élevées a permis leur utilisation comme fertilisant, néanmoins il n'est pas sans inconvénients, ils génèrent une acidité et une salinité élevées, une accumulation de lipides et d'acides organiques (Kuznetsova et *al.* 2007).

Deuxième partie

Synthèse expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Margines

Les margines utilisées dans le présent travail ont été prélevées d'une huilerie moderne à trois phases située dans la région de TIZI RACHED au cours de l'extraction de l'huile d'olive (olives noires, dernier stade de maturation) de variété *Chamlal*. Ces oliveraies sont également situées à Tizi Rached selon les coordonnées Lambert suivantes : $36^{\circ}41'18''$ à $36^{\circ}41'23''$ N et $4^{\circ}12'41''$ à $4^{\circ}12'46''$ E, sur une altitude de 210 m (Google Earth., 2020).



Figure 5. Zone des oliveraies desquelles sont issues les margines (Google Earth,).

L'échantillon est noté « M » collectée au mois de janvier 2020 et provient de la récolte de 2019/2020. Après la collecte, les margines ont été mises dans des bouteilles en plastique et conservées au congélateur à une température de -20°C , pour être décongelées à la veille de leurs utilisations, (voir figure 6).



Figure 6. Aspect des margines étudiées .

1.1.2. Echantillons de sol

Trois échantillons de sols, notés ; S1, S2, S3, sont prélevés dans les régions arides des hauts plateaux algériens, et un autre sol, noté S4, est prélevé dans la région de Béni Aïssi, sur une zone d'échantillonnage prise arbitrairement dont les coordonnées Lambert sont : $36^{\circ}39'27''\text{N } 4^{\circ}05'19''\text{ E}$, à une altitude de 484 m (voir figure 8). Les échantillons de sols analysés lors de cette expérimentation ont été cultivés avec de l'orge (*Hordeum vulgare* L. var. *fouara*), qui est une espèce rustique cultivée dans les hauts plateaux Algériens, particulièrement sur des sols arides. Les semences de cette variété (figure7) proviennent de M.A.R.A, IDGC 20/01/2021 de Sétif.



Figure7. Situation géographique du lieu d'échantillonnage du sol 4 (S4).



Figure 8. Semences d'orge (*Hordeum vulgare* L. var. fouara).

1. Méthodes

1.1. Présentation du dispositif expérimental

Afin de se rapprocher le plus possible de l'effet de l'apport des margines sur la microflore du sol à des conditions au champ, des essais en pots en plastique ont été réalisés. Chaque pot a d'abord été rempli de 30g de perlite ; un matériel parfait pour améliorer le drainage afin d'éviter l'asphyxie des plantes. Ensuite, 120 g de chaque sol tamisé et aéré ont été disposés à l'intérieur de chaque pot. Puis le semis de l'orge a été réalisé à raison de 5 caryopses par pot. Après le semis, tous les pots ont été arrosés de 30 ml d'eau minérale afin d'obtenir une germination) Haouam et Rezki, 2019 ; Demik, 2020).

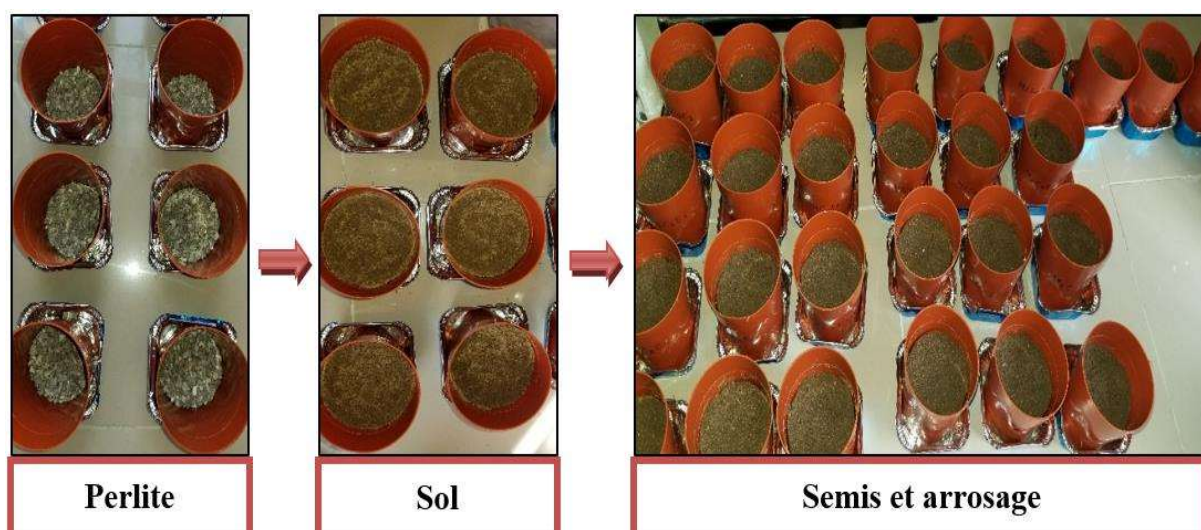


Figure 9. Préparation des pots pour la croissance de l'orge en présence de margines.

Une série de trois répétitions a été réalisée pour chaque échantillon de sol et pour chaque test, soit 09 pots pour chaque sol (03 témoins, 03 test avec margines brutes, 03 test avec margines diluées). L'apport des margines a été réalisé avec un volume total de 30 ml effectué une semaine après le semis (après l'obtention d'une germination).

Pour chaque échantillon de margines ont été effectuées deux concentrations : 50% et 100%, chaque concentration a été répétée trois fois. En parallèle, un témoin arrosé à l'eau minérale possède également trois répétitions. L'arrosage suivant ces concentrations s'effectue après chaque semaine. Le suivi de la croissance s'étale sur une période de 22 jours (8 jours de germination + 14 jours de levée) correspondant à la date du 07/06/2021 au 29/06/2021. Soit deux arrosages ont été effectués. Le résultat du dénombrement de la microflore totale et des levures et moisissures a été réalisé pour chaque sol cultivé ou non cultivé.

2. Dénombrement des microorganismes des sols arrosés avec les margines

2.1. Préparation des suspensions mères

La suspension mère est obtenue en mélangeant 10g de chaque sol arrosé avec les différentes concentrations de margines avec 90 ml d'eau physiologique et le tout est agité 15 min l'aide d'un agitateur (Yaakoubi, 2009), (modifier). La figure 10 montre l'aspect des différentes suspensions obtenues.

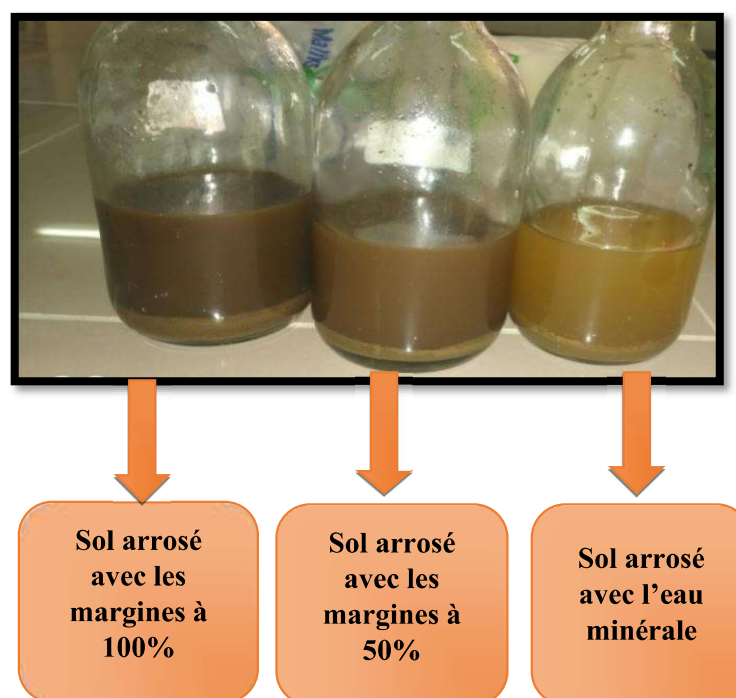


Figure 10 . Aspect des différentes suspensions mères.

2.2. Dénombrement de la microflore totale du sol

Le dénombrement est déterminé à partir de la suspension mère préalablement préparée et ce, en diluant 1 ml dans 9 ml d'eau physiologique et ainsi de suite, une série de dilutions décimales successives (10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6}) est réalisée. Ensuite, des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive sontensemencées en masse avec les diverses dilutions de la suspension mère. Les boîtes, sont ensuite incubées à 37°C durant 24 à 48h. Le calcul du nombre de microorganismes, se fait à partir du nombre de colonies, unité formant colonie (UFC), obtenues dans la ou les boîtes correspondant aux dilutions donnant un résultat dénombrable (30-300). Chaque colonie est considérée comme ayant été engendrée par une cellule de microorganisme (Yaakoubi, 2009).

2.3. Dénombrement des levures et des moisissures du sol

Le dénombrement des levures et des moisissures est déterminé sur le milieu de culture PDA suivant la même procédure précédente décrite pour la microflore totale. Les boîtes de Pétri sont incubées à 28°C pendant plus de 72h (Yaakoubi, 2009), (modifié).

Résultats et discussion

1. Résultats et discussion

Afin d'étudier l'impact de l'apport des margines sur les microorganismes du sol, nous avons procédé à une numération des microorganismes après trois fois d'arrosages sur une durée de 21 jours. La présente étude s'est focalisée sur une comparaison entre le sol témoin (non arrosé avec des margines) avec ceux des sols, cultivés ou non, avec l'orge et traités aux margines. La répercussion de ces dernières sur la croissance de l'orge étant déjà étudiée dans les travaux précédents (Haouam, 2019 ; Demik, 2020) qui ont pu recommander l'utilisation des margines diluées (50%). En outre, nous nous sommes intéressés à dénombrer les levures et les moisissures considérées comme étant les principaux facteurs de dégradation des margines. Les résultats du dénombrement sont exprimés en unités formant colonies /g de sol.

1.1. Effet des margines sur la microflore totale des sols étudiés

Les résultats du dénombrement de la microflore totale des différents sols cultivés traités avec les différentes doses de margines ainsi le témoin sont résumés dans les figures 11 ;12 ; 13, 14 et 15. L'effet de l'épandage des margines sur l'activité microbienne du sol peut être étudié en analysant simultanément les histogrammes des moyennes du dénombrement des sols cultivés avec ceux du témoin. La figure 12 indique la microflore totale dans le sol (S1) cultivé en log UFC/ g de sol.

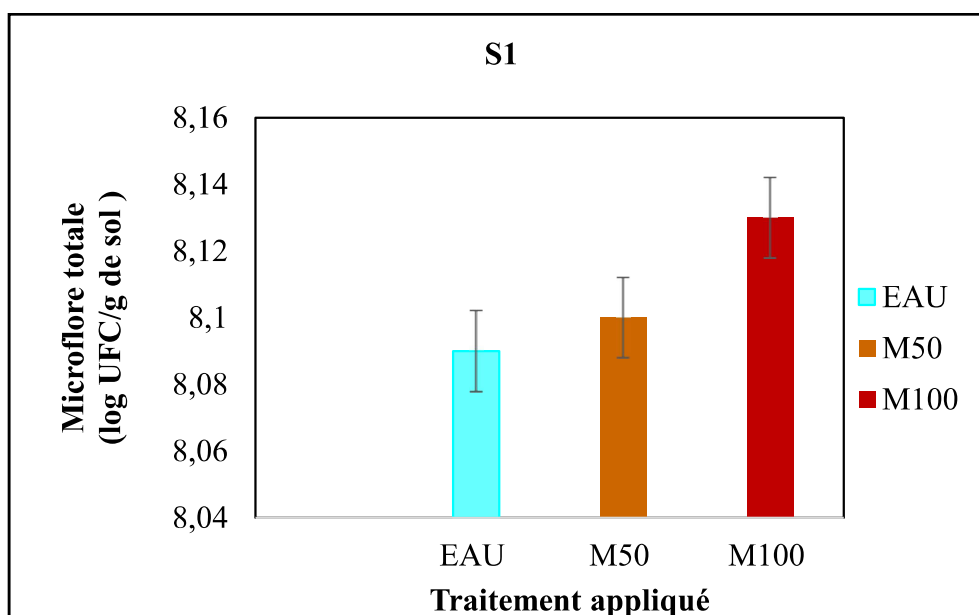


Figure11. Résultats du dénombrement de la microflore totale dans le sol cultivé (S1) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau après 48h d'incubation.

La figure 13 indique le nombre de la microflore totale dans le sol (S2) cultivé en log UFC/ g de sol.

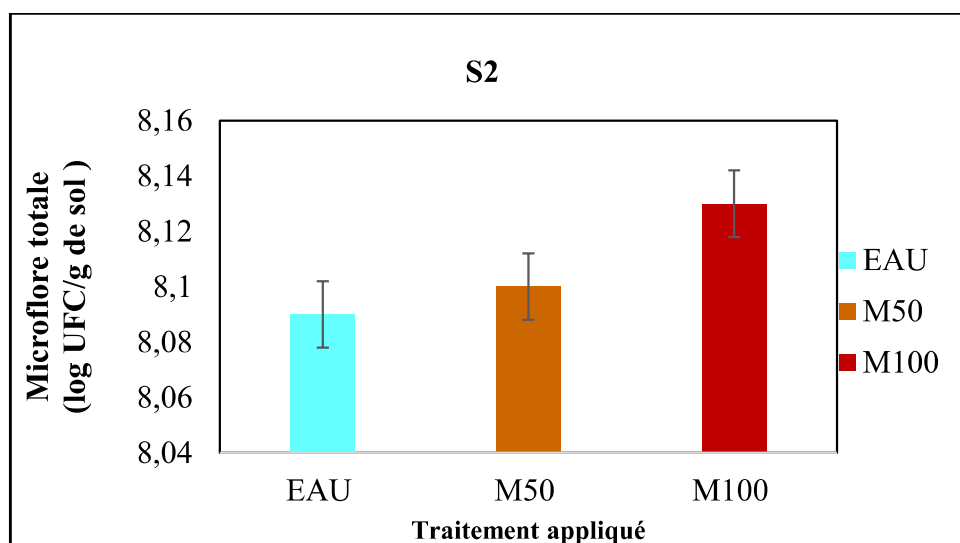


Figure 12. Résultats des dénombrements de la microflore totale dans le sol cultivé (S2) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau après 48h d'incubation.

La figure 14 indique le nombre de la microflore totale le sol (S3) cultivé en log UFC/ g de sol.

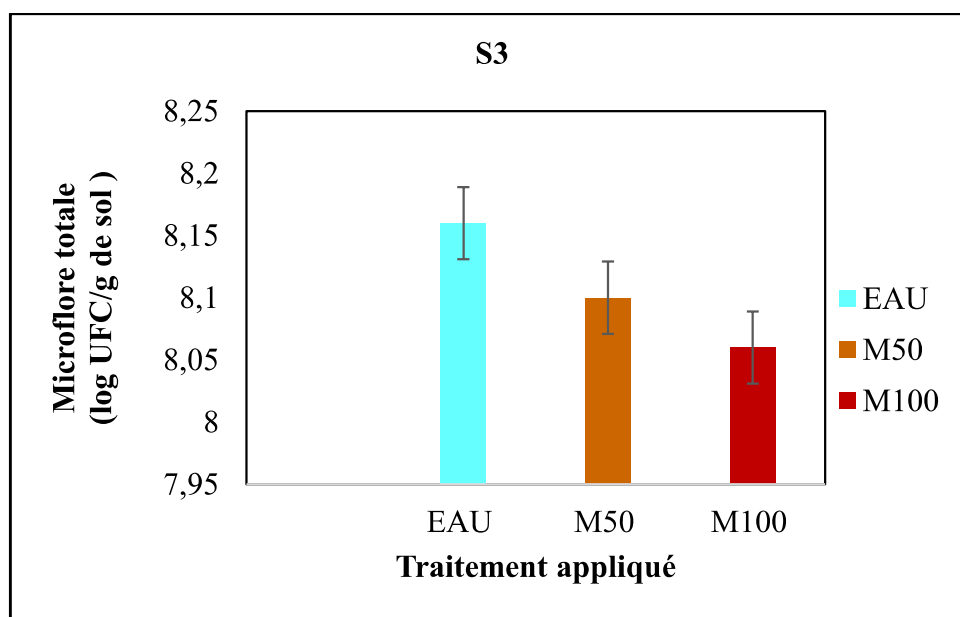


Figure 13. Résultats du dénombrement de la microflore totale dans le sol cultivé (S3) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau après 48h d'incubation.

La figure 14 indique le nombre de la microflore totale dans le sol (S4) cultivé en log UFC / g de sol.

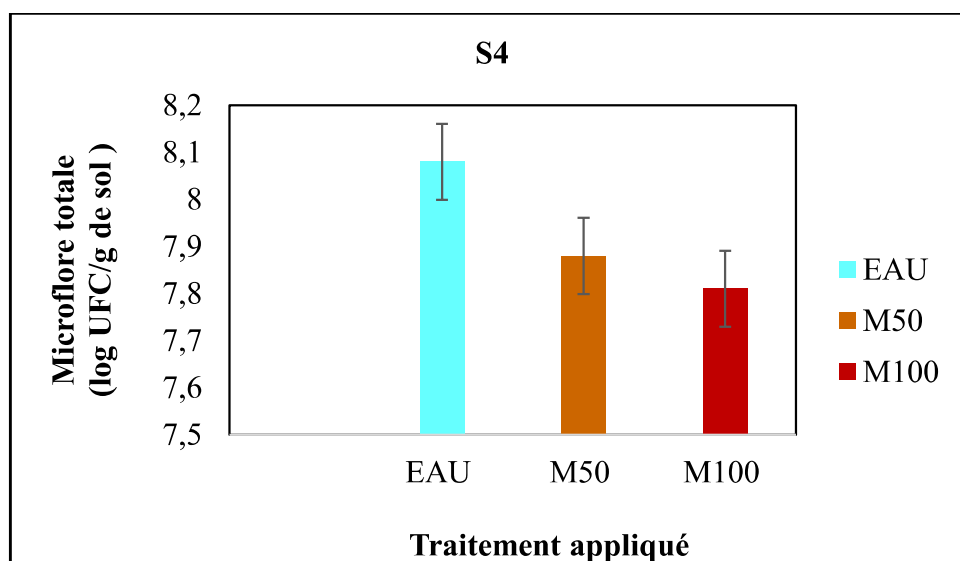


Figure 14. Résultats du dénombrement de la microflore totale dans le sol cultivé (S4) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau après 48h d'incubation

La figure 15 indique le nombre de la microflore totale dans le sol (S4) non cultivé (témoin) en log UFC / g de sol.

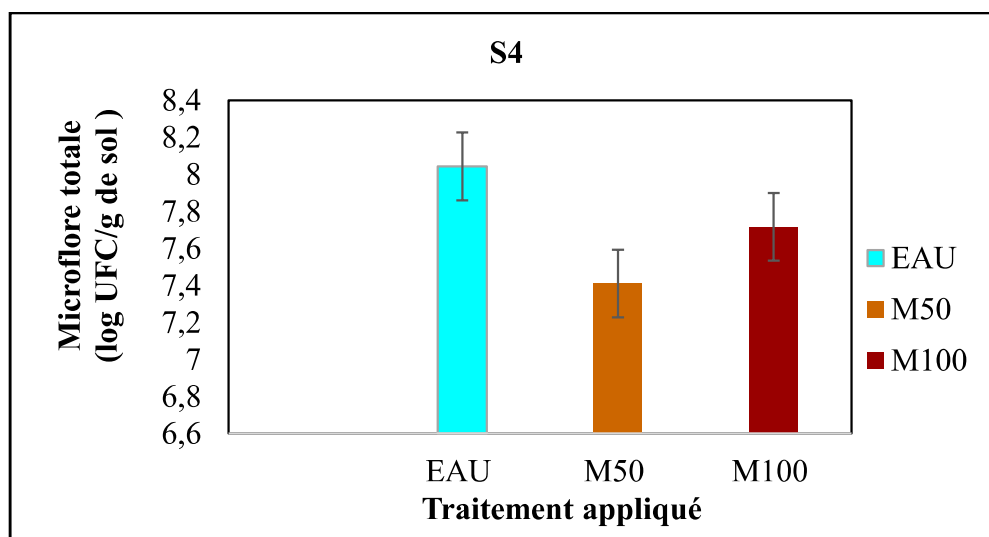


Figure 15. Résultats du dénombrement de la microflore totale dans le sol non cultivé (S4) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau après 48h d'incubation.

Les résultats montrent une influence positive de l'emploi des margines sur la microflore totale du sol. D'après les histogrammes, la microflore totale augmente dans les sols traités par margines comparativement au témoin. Cela signifie que les doses utilisées n'exercent pas d'activité antimicrobienne dans les conditions entreprises dans le présent travail. De plus, les margines, étant riches en matières organiques, favoriseraient la croissance des microorganismes. En effet, Medeci et *al.* (1985) ont montré qu'à un pH neutre ou légèrement alcalin (7,4-7,6), ces composés phénoliques passent sous forme de phénates et perdent une grande partie de leur pouvoir antimicrobien. Les microorganismes peuvent alors les utiliser comme nutriments carbonés et énergétiques (Borja et *al.* 1995).

Par ailleurs, Dommergues (1971) a montré que la biodégradation des composés phénoliques par les bactéries du sol peut être accélérée par une élévation du pH et/ou une amélioration de l'aération. Ben Rouina et *al.* (1999) ont aussi montré que la fertilité du sol a été améliorée par l'apport des margines, notamment au niveau des teneurs en matière organique et en potassium. Rappelons que, généralement les margines sont des effluents à contenu organique allant de 2,5 à 10,5 % du volume total. Bien que cette teneur soit faible, elle pourrait constituer un stimulus de l'activité microbienne du sol.

Dans le cas de la présente étude, les quantités de margines utilisées ainsi que les conditions d'essai (essai dans des pots en plastiques) semblent n'avoir aucun effet inhibiteur sur la charge microbienne du sol. Ceci est en accord avec la littérature (Lombardo et *al.* 1988 ; Marsilio et *al.* 1990, Tomati, 1992) qui rapporte que l'épandage des margines sur le sol a montré un effet positif sur les populations de champignons, d'actinobactéries, de bactéries fixatrices d'azote atmosphérique et de bactéries cellulolytiques du sol. Dans le même sens, les travaux réalisés par Ben Ruina et *al.* (1999) ont montré que l'application des margines sur des jeunes oliviers en pots, avec des doses croissantes (0, 2, 4, 6 et 8 litres/pot) pendant deux années, a permis une activité microbienne intense et une abondance relative de fixateurs d'azote.

1.2. Effet des margines sur les levures et les moisissures du sol

Les résultats du dénombrement des levures et des moisissures des différents sols cultivés traités avec les différentes doses de margines ainsi le témoin sont résumés dans les figures 16 ; 17, 18, 19 et 20.

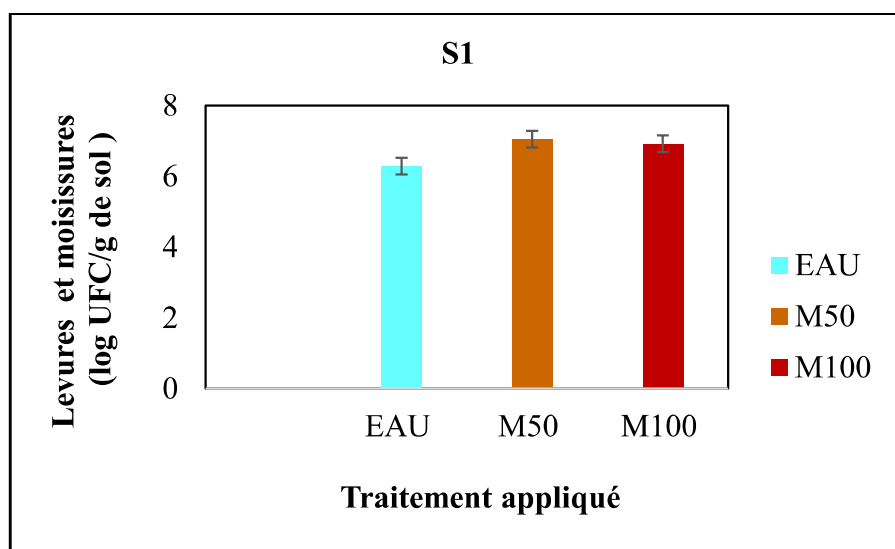


Figure 16. Résultats du dénombrement des levures et moisissures dans le sol cultivé (S1) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau après 72 h d'incubation.

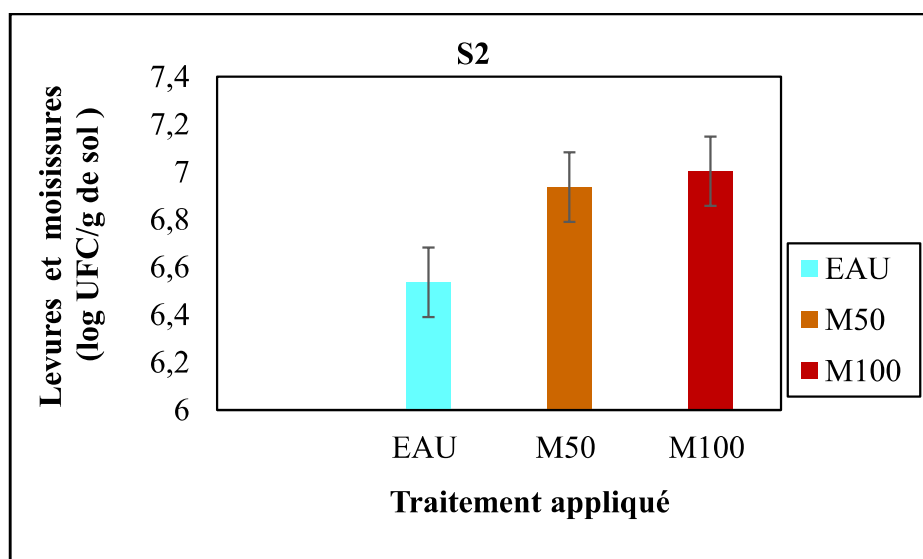


Figure 17. Résultats du dénombrement des levures et moisissures dans le sol cultivé (S2) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau après 72 h d'incubation.

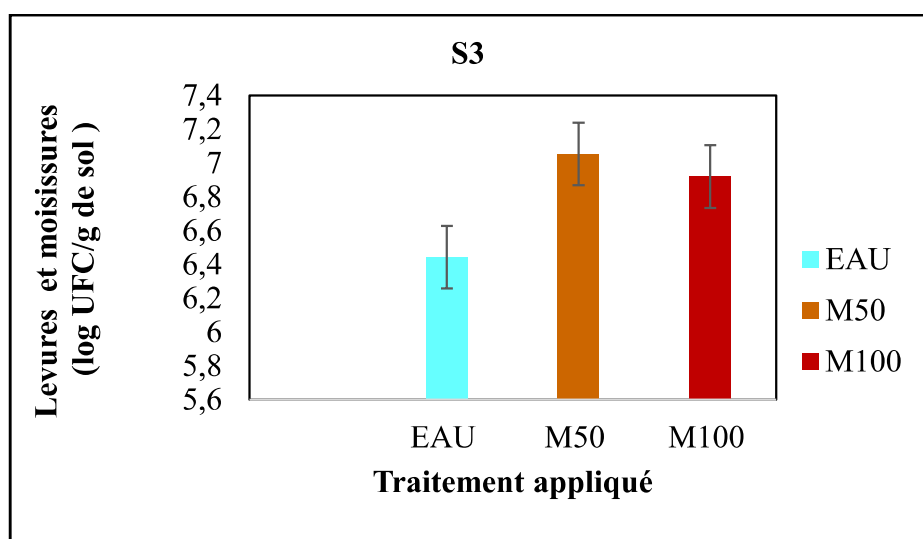


Figure 18. Résultats du dénombrement des levures et moisissures dans le sol cultivé (S3) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau après 72 h d'incubation.

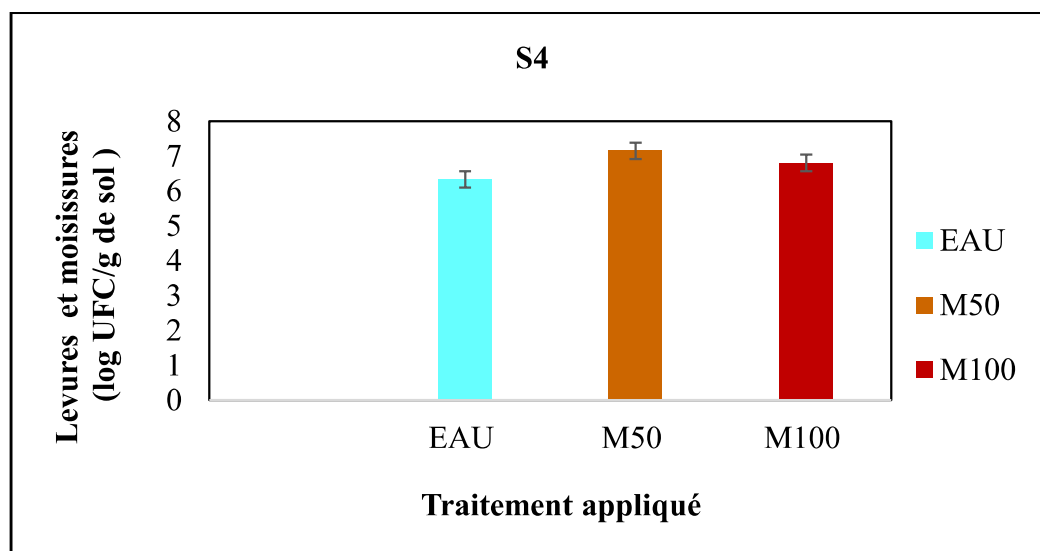


Figure 19. Résultats du dénombrement des levures et moisissures dans le sol cultivé (S4) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau après 72 h d'incubation.

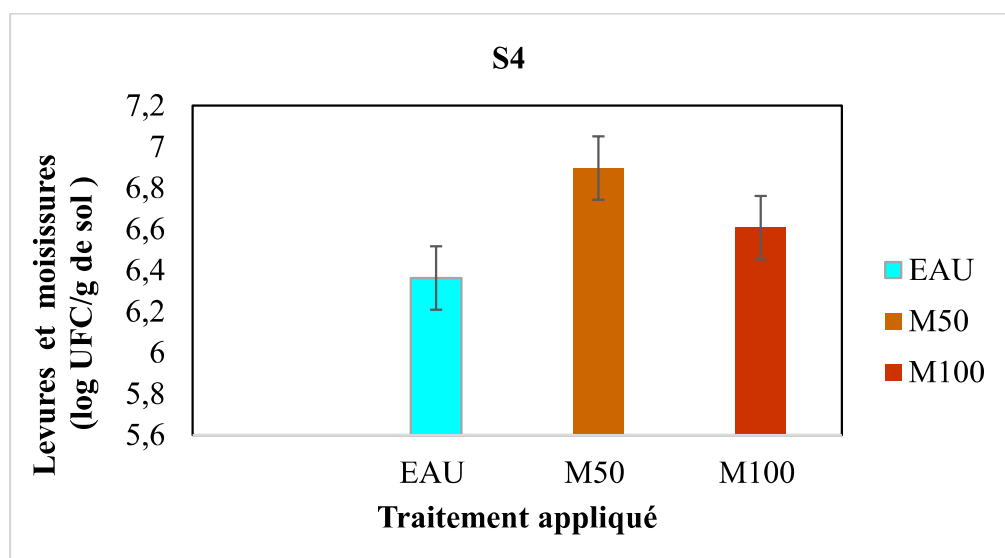


Figure 20. Résultats du dénombrement des levures et moisissures dans le sol cultivé (S4) arrosé avec les margines (50 ou 100%) comparativement au témoin arrosé avec l'eau après 72 h d'incubation.

D'après les résultats illustrés dans les histogrammes de la figure 18, une augmentation des champignons et des levures visuellement en particulier dans la couche supérieure du sol tout au long de l'essai, avec les différentes concentrations des margines par rapport à ceux traités avec l'eau minérale. Cette augmentation était plus remarquable avec les margines brutes à (100%). Par ailleurs, aucune contamination par ces levures ou moisissures n'est observée sur les des feuilles de l'orge. De ce fait, nous constatons une stimulation de l'activité des levures et moisissures.

Les études microbiologiques effectuées sur plusieurs échantillons de margines ont confirmé l'absence totale de micro-organismes pathogènes. Donc, ces effluents ne posent aucun problème hygiénico-sanitaire (Ranalli, 1991). Des analyses microbiologiques ont montré que les levures et les champignons sont capables de s'y développer mieux que les bactéries (Aissam et al. 2002). En effet, ces micro-organismes supportent la salinité élevée et le pH acide caractéristiques de ces effluents, et résistent plus que les bactéries aux substances phénoliques. Parmi les levures, on y trouve *Trichosporium cutaneium*, *Cryptococcus albidus* ainsi que les genres *Rhodotorula sp*, *Candida sp*. Et *Saccharomyces sp*. (Ramos-Cormenzana, 1986, Gharsallah, 1993 ; Aissam et al. 2002 ; Fadil et al. 2003). La flore fongique se compose essentiellement d'*Aspergillus flavius*, *Aspergillus candidus*, *Penicillium negricans*, et *Alternaria sp*. La flore bactérienne regroupe les bactéries qui résistent aux polyphénols particulièrement les bactéries à Gram-négatif. Le genre *Pseudomonas sp*. Ainsi que *Bacillus*

megaterium ont été décrits. Une étude microbiologique menée par Mouncif et *al.* (1993) sur les margines Marocaines a noté la présence des levures et des champignons (*Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Geotrichum candidum*). La caractérisation microbiologique des margines de quatre études sur 35 stations d'évaporation en Espagne a révélé la présence d'un nombre variable de bactéries, de levures et de champignons (Millan et *al.* 2000).

Conclusion et perspectives

Conclusion

Les margines sont des sous-produits du procédé de l'extraction de l'huile d'olive, leurs déversements dans la nature constituent un problème pour l'environnement à cause de leur toxicité qui est liée à la composition phénolique. L'objectif principal du présent travail était la valorisation agricole des margines, et ce, par l'étude de l'effet de leur apport, à court terme (stade de la levée de l'orge), sur la microflore du sol cultivé avec l'orge. La richesse de ces effluents en composés à haute valeur tel que l'eau, la matière minérale et organique pourrait être exploitée comme source d'irrigation et de fertilisation des cultures. De plus, il est bien connu que la microflore du sol est dotée d'activités importantes de biodégradation bénéfiques pour les plantes. Dans ce contexte, des tests ont été menés sur des sols cultivés ou non avec l'orge *Hordeum vulgare* dans le but de voir le comportement des microorganismes vis-à-vis des margines en présence et en absence d'une culture d'orge, sa répercussion sur cette dernière étant déjà étudiée dans les travaux précédents (Haouam et Rezki, 2019 ; Demik, 2020). Le choix est porté sur l'orge *Hordeum vulgare* qui est une graminée rustique possédant une importance économique dans l'alimentation sur des échantillons différents des sols.

Les résultats expérimentaux ont révélé que les phénols provenant des margines ont été probablement dégradés ou réorganisés et que l'apport de la matière organique des margines n'a engendré aucun effet négatif sur l'activité microbienne du sol, de ce fait une activation l'activité de la microflore du sol ont été constatées suite à l'épandage des doses étudiées.

L'épandage de ces effluents, aux doses recommandées (margines diluées) n'ont pas d'incidences négatives sur les terres agricoles. Des doses plus importantes que celles étudiées et qui sont d'ailleurs considérées excessives et non recommandées, pourraient engendrer des répercussions non désirables. En perspectives il serait intéressant d'exploiter cette voie de valorisation sur une longue période d'arrosage.

Références bibliographiques

Références

- Aharonov-Nadborny R., Tsechansky L., Raviv M., Graber E R., (2018). Mechanisms governing the leaching of soil metals as a result of disposal of olive mill wastewater on agricultural soils. *Science of the total environment.*, 630, 1115-1123.
- Zouheir G., Mohamed C., Mohamed B., Ali M., (2019). Agro-physiological and biochemical responses of *Sorghum bicolor* in soil amended by olive mill wastewater, 212 ,60–67.
- Aissam H., Errachidi F., Merzouki M., Benlemlih M., (2002). Identification des levures isolées des margines et étude de leur activité catalase, *Cahiers de l'Association Scientifique Européenne pour l'Eau et la Santé.*, 7 ,23-30,
- Aissam H., (2003). Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase, Thèse de Doctorat national, Université sidi mohamed ben abdellah. Fes, 18.
- Aissam H., (2003). Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase, Thèse de doctorat national, Université sidi mohamed ben abdellah, Fes, 156.
- Alloum D., (1974). L'oléiculture algérienne, l'olivier, Paris : CIHEAM, Options Méditerranéennes, 24, 45-48,
- Amirante P., Montervino A., (1996). Epuration par concentration thermique des effluents des huileries d'olive et compostage du concentré. Une expérience appliquée dans pouilles, olivea, 63,64-69.
- Anaerobic filter and aerobic fluidized bed processes. *Environmental. Technology.*, 14, 183-188.
- Amic A., Dalmaso., (2013). Unité de valorisation complète de déchets oléicoles par lombricompostage : Production de produits à haute valeur ajoutée : lombricompostage, savon, collagène et lombrics. Master en sciences de l'environnement terrestre. Université Aix- Marseille. France ,30.
- Atlas R M., Bartha R., (1993). *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*. Third edition. Édition The Benjamin / Cummings Publishing Company, Redwood City. Canada. 563.
- *Biologie Méditerranéen Recherche International.*, (2013). Article ID 784591, 16.
- Chiofalo B., Liotta L., Zumbo A., Chiofalo V., (2004). Administration of olive cake for feeding; effect on milk yield and composition; *Small Ruminant Research*: 550. 169- 176.

- Bahorun T., (1997). Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne. Une source D’approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council Mauritania, 83-94.
- Barbera A C., Maucieri C., Cavallaro V., Ioppolo A., Spagna G. (2013). Effects of spreading olive mill wastewater on soil properties and crops, a review. *Agricultural Water Management*, 119, 43-53.
- Ben Rouina B., Taamallah H., Ammar E., (1999). Vegetation water used as a fertilizer on young olive plants. *Acta Horticulturae* 474, 353-355.
- Berset C., Bondini., L ; (2000). Compte rendu de la journée ACIA de 14 décembre 1999 Rôles des polyphénols en alimentation et santé humaine, 20-24,
- Bianchi G., (2003). Lipides and phenols in table olive. *Journal Lipid Science Technology*, 105, 229-242.
- Bloem J., Lebbink G., Zwart K B., Bouwman L A., Burges S., Devos J A., De Ruyter P C., (1994). Dynamics of microorganisms, microbivores and nitrogen mineralization in winter wheat fields under conventional and integrated management. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 51,129-143.
- Borja R., Banks C J., Alba J., (1995). A simplified method for determination of kinetic parameters to describe the aerobic biodegradation of two important phenolic constituents of olive mill wastewater treatment by a heterogeneous microbial culture. *Environmental, Sciences Health.*, 607-626.
- Borja R J., Alba S E., Garrido L., Martinez MP., Garcia C., Incerti A., Ramos C., (1995). Comparative study of anaerobic digestion of olive mill wastewater (OMW) and OMW previously fermented with *Aspergillus terreus*. *Bioprocess Engineering.*, 13, 317-322.
- SAIZ-JIMENEZ C., (1986). In *International Symposium on Olive By-products valorization*”, Sevilla, Spain, 61-76.
- Cheng S., Liu J Y., Chang E H., Chang ST., (2008). Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource Technology*, 99(11), 5145-5149.
- Cossu R., Blakey N., Cannas P., 1993. Influence of co-disposal of municipal solid waste and olive vegetation water on anaerobic digestion of sanitary landfill. *Water Sciences Technology*. 27: 261-271.
- Capasso R., De Martino A., Arienzo M., (2002). Recovery and characterization of the metal polymeric organic fraction (polymerin) from olive oil mill wastewaters. *Agricultural Food Chemistry*, 50 (10), 28-46-55,

- Conseil Oléicole International., (2006). Le monde oléicole Le monde oléicole, L'olivier 01.
- Crozier A., Del Rio D., Clifford M N., (2010). Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compound. *Molecular Aspects of Medicine*, 31, 446–467.
- Hatzipa valides D., Servis G., Tzerkis C., Balis C., (1986). In “Eighth Congress of Greek Society of Biological Sciences”, Icanina, Greece.
- Davet P., (1996). La vie microbienne dans le sol et la production végétale, INRA, Edit, Paris, 383.
- Demik Y. (2020). Etude comparative de l'impact de deux échantillons de margines sur la germination et la levée de l'orge '*Hordeum vulgare L.*' variété Fouara en conditions contrôlées. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou.
- De Ruyter P C., Van Veen J A., Moore J C., Brussaard L., Hunt H W., (1993). Calculation of nitrogen mineralization in soil food webs. *Plant and soil*, 157,263-273.
- Dommergues Y., (1971). Interrelations sans caractère symbiotique entre la végétation et la microflore du sol : « l'effet litière ». *La vie dans le sol : aspects nouveaux, études expérimentales.* Gauthier - Villars édit., Paris, 423 - 471.
- Duchaufour P., (2001). Introduction à la science du sol. 6ème édition de l'abrégé de pédologie. Dunod. Ed. Masson. Paris. 314.
- ecosystem nutrient cycling. *Trends in Ecology and Evolution*. 15, 238-243.
- MORENO. E; PEREZ. J; Ramos. A. C; MARTINEZ. J, (1987). *Microbiology structural*, 51- 169 - 174.
- Fadil K., Chahlaoui A., Ouahbi A., Zaid A., Borja R., (2003). Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry. *International biodeterioration & biodegradation*, 51, 37-41.
- Fiorentino F., Garofalo A., De Santi G., Bono., G B., Giusto G N., (2003). Spatio- temporel distribution of recruits (o group) of *Merluccius* and *Phycisblennoides* (Pisces ; Gadiformes) in the Strait of Sicily (Central Mediterranean). *Hydrobiologie* 503 :223-23.
- Fiestas Ros d'Ursinis J A., Borja R., (1992). Use and treatment of olive mill wastewater : current situation and prospects in Spain. *Grasas y aceites*, 2: 101-106.
- Fernandez Diaz M J., Rehm H J., Reed G., (1983). *Olives Biotechnology*, VerlagChemie, Weinheim, 5, 379-397.
- Fiestas Ros. J.A; Borja Padilla. R, (1992). Use and treatment of olive mill wastewater: current situation and prospects in Spain, *Grasas y Aceites*, vol 43 (2), 101-106.

- Fiestas Ros. J.A, (1981). Différentes utilisations des margines. Actes du Séminaire International sur la valorisation des sous-produits de l'olivier. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO). 93-110. Tunisie.
- Fiorentino A., Gentili A., Isidori M., Monaco P., Nardelli A., Panella A., FabioT., (2003). Environmental effects caused by olive mill waste waters., Toxicity comparison of lowmolecular- weight phenol compounds. Journal Agricultural. Food Chemistry, 51, 1005- 1009.
- Giuseppe B., Serafina A., Adele F., Manuel E., Lucas B., Demetrio A Z., (2021). Short-term effects of olive oil mill wastewater application on soilwater repellency, 244.
- Ines F., Noureddinne A., Sami S., (2005). The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. Food Chemistry, 93, 197–204.
- Garcia M R L., Nahas E., (2012). Microbial populations and the activity of the soil under agricultural and agricultural–pastoral systems. Agronomical, SoilScience. 58 (5), 511-525,
- Gargouri K., Masmoudi M., Rhouma A., (2014). Influence of olive mill wastewater (OMW) spread on carbon and nitrogen dynamics and biology of an arid sandy soil. Communications in soil science and plant analysis, 45(1) : 1-14.
- Gharsallah N., (1993). Production of single cell protein from olive mill wastewater by yeasts. Environtal.Technology., 14, 391-395.
- Ghedira K., (2005). Les flavonoïdes : structures, propriétés biologiques, rôle prophylactiques et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 3 (04), 162-169.
- Glick B R., (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can J Microbiology., 41,109–117.
- Gobat J., Arango M., Mathey W., (2003). Le sol vivant, base de pédologie, biologie des sols, 568.
- Guignard J L., Dupont F., (2004). Botanique les familles des plantes, Editions Masson, Paris, France., 336.
- Hamdi M., Ellouz P., (1993). Treatment of detoxified olive mill wastewater's.
- Boudoukhana H., (2008). Thèse de magister de l'université du 20 aout 1955 Skikda. Impact des margines sur les eaux d'oued Bouchtata wilaya de Skikda.
- Hamdi M., (1996). Anaerobic Digestion of Olive Mill Wastewaters. Process Biochemistry.
- Haouam I. et Rezki L. (2019). Impact de l'apport des margines sur la germination et la croissance de l'orge "*Hordeum vulgare* L. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou.

- Hamdi M., (1992). Toxicity and biodegradability of olive mill wastewater's in batch anaerobic digestion. *Appl. Biotechnol.*, 2, 155-163.
- Hattenschwiler S., Vitousek P M., (2000). The role of polyphenols in terrestrial.
- Kalia A., Gosal S K., (2011). Effect of pesticide application on soil Microorganisms. *Architects. Agronomical. Soil. Science.* 57 (6), 569-596
- Kapellakis I E., Tsagarakis K P., Crowther J C., (2008). Olive oil history, production and by-product management. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 7, 1-26.
- Karamać M., Pegg R B., (2009). Limitations of the tetramethylmurexide assay for investigating the Fe (II) chelation activity of phenolic compound, *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 57(14), 6425-6431.
- Kestioglua K., Yonara T., Azbarb. N., (2005). Feasibility Of Physic-chemical treatment and Advanced Oxidation Processes (AOPS) a means of Pretreatment of olive mill effluent (OME). *Process biochemistry* 40, 2409-2416.
- Lavelle P., Spain A V., (2001). *Soil Ecology.* Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 65.
- Leung K T., Errampalli D., Cassidy M., Lee H., Hall B., Trevors J T., Okamura H., Bach. H J., (1997). A case study of bioremediation of polluted soil: biodegradation and toxicity of chlorophenols in soil. In: Van Eisas J. D, Trevors J. T & Wellington E. M. H. (eds) *Modem soil microbiology.* Marcel Dekker, INC. New York. 577-605
- Lombardo N., Briccoli Bati C., Marsilio V., Di Giovacchino L., Solinas M., (1988). Prime osservazioni sugli effetti delle somministrazioni di acqua di vegetazione al terreno agrario. *Annali Istituto Sperimentale Olivicoltura* 10, 9-22.
- Lamraoui I., (2018). Caractérisation microbiologique et biochimique. D'une eau de végétation (margine). 59.
- Aggoun A M., (2016). Caractérisation de la composition en micro constituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse de l'Université Frères Mentouri Constantine.
- Macheix J., Fleuriet A., Jay Allmend C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux. *Collection biologie.* Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne, 192.
- Magdich S., Ahmed C B., Jarboui R., Rouina B., Boukhris M., Ammar E., (2013). Dose and frequency dependent effects of olive mill wastewater treatment on the chemical and microbial properties of soil. *Chemosphere*, 93(9) : 1896-1903.

- Manach C., Mazur A., Scalbert A., (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, 16, 1–8.
- Manel.H K., (2013). Bioconversion enzymatique des composés phénoliques des effluents issus de l'extraction d'huile d'olive, Doctorat en biologie, p9, Université de Sfax.
- Maymone B., Battaglini A., Tiberio M., (1961). Ricerchesul valore nutritione vodellasansa di olive. *Alimentazione Animale*. 5, 219-250.
- Medeci F., Comely E., Spagnoli E., (1985). Anaerobic digestion of olive mill wastewater, a new process. Anaerobic digestion and carbohydrates hydrolysis of waste. In Ferranti H., Ferrero M.P. and Vaveau H. édition., 385 - 398, Elsevier Publication., London
- Millan B., Lucas R., Robles A., García T., Alvarez de Cienfuegos G., Gálvez A., (2000). A study on the microbiota from olive-mill wastewater (OMW) disposal lagoons, with emphasis on filamentous fungi and their biodegradative potential *Microbiology Res.*, 155 (3), 143-7.
- Mohawesh O., Al-Hamaiedeh H., Albalasmeh A., Qaraleh S., Haddadin M., (2019). Effect of olive mill wastewater (OMW) application on soil properties and wheat growth performance under rain-fed conditions. *Water, Air, & Soil Pollution*, 230(7) : 160.
- Mouncif M., Tamoh S., Faid M., Achkari-Begdouri A., (1993). A study of chemical and microbiological characteristics of olive mill wastewater in Morocco. *Grasas y Aceites*, 44, 335-338.
- El-Bassi L., Ahmed A., Azzaz A., Mellal S., Akrouf H., Evan A N., Matei Ghimbeu C., Mejdji J., (2021). Application of olive mill waste-based biochars in agriculture : Impact on soil properties, enzymatic activities and tomato growth, 75.
- Morillo J A., Antizar-Ladislao B., Monteoliva-Sanchez M., Ramos-Cormenzana A., Russell N J., (2009). Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Applied Microbiology*, 82, 25-39.
- Morisot A., Tournier J P., (1986). Répercussions agronomiques de l'épandage d'effluents et déchets de moulins à huile d'olive. *Agronomie* 6, 235-241.
- Mouncef M., Tamoh S., Faid M., Achkari-Begdouri A., (1993). A study of chemical and microbiological characteristics of olive mill wastewater in Morocco, *Grasas y Aceites*, Vol 44,335-338.
- Nefzaoui A., (1988). (Options Méditerranéennes : Série Etudes ; n. 1988-V), Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits. In : M. Allaya *L'économie de l'olivier*. Paris : CIHEAM, 153-173
- Nefzaoui A., Valorisation des sous-produits de l'olivier, *Options Méditerranéennes*, 101.

- Noipa T., Srijaranai S., Tuntulani T., Ngeontae W., (2011). New approach for evaluation of the antioxidant capacity based on scavenging DPPH free radical in micelle systems. *Food Research International*. 44, 798–806.
- Normand P., Navaro L., Domenach A M., (2000). La symbiose fixatrice d'azote Frankioplantes actinorhiziennes. *Bulletin de la Société Française de Microbiologie* 15,241-244.
- Noubigh A., Abderrabba M., Provost E., (2007). Temperature and salt addition effects on the solubility behaviour of some phenolic compounds in water, *Chemical Thermodynamics*, 39 (2), 297-303.
- Obied H K., Prenzler P D., Konczak I., Rehman AU., Robards K., (2009). Chemistry and bioactivity of olive bio phenols in some antioxidant and ant proliferative in vitro bioassays *Chemistry Toxicol.*, 22, 227-234.
- Ouabou E., Anouar A., Hilali S., (2014). Traitement de la margine brute d'huile d'olive par distillation suivi de neutralisation par la chaux, *Applied Biosciences*, 79, 6867-6872.
- Paraskeva P., Diamadopoulos E., (2006). Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81, 1475–1485.
- Pochon J., (1954). *Technical Manual of microbiological soil analysis.*, Masson, Paris, 123.
- Quenea K., (2004). Etude structurale et dynamique des fractions lipidiques et organiques réfractaires de sols d'une chronoséquence forêt/maïs (CESTAS, Sud-Ouest de la France). Thèse Doctorat Université Paris VI, 202.
- Ranalli A., (1991). L'effluent des huiles d'olives : propositions en vue de son utilisation et son épuration. *Références aux normes italiennes en la matière. Oliva*, 39, 18-34.
- Ranalli A., (1991). The effluent from olive mills: proposals for re-use and purification with reference to Italian Legislation *Olive*, 38, 26-40.
- Rayan D., Robards K., Lavee S., (1999). Determination of phenolic compound in olive by reverse-phase chromatography and mass spectrometry. *Journal Chromatography A*, 832, 87– 96.
- Rayan D., Robards K., (1998). Phenolic compound in olive, *Analyst*, 123, 31-44.
- Regni L., Gigliotti G., Nasini L., Agrafioti E., Galanakis C M., Proietti P., (2017). Reuse of olive mill waste as soil amendment. *Academic Press. Olive Mill Waste*, 1(1) : 97-117.
- Roig A., Cayuela M L., Sánchez-Monedero M A., (2006). An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management*, 26(9) : 960-969.
- Sablonnier B., (2002). *Biologie microbienne (Microbial biology)*, 157-202.

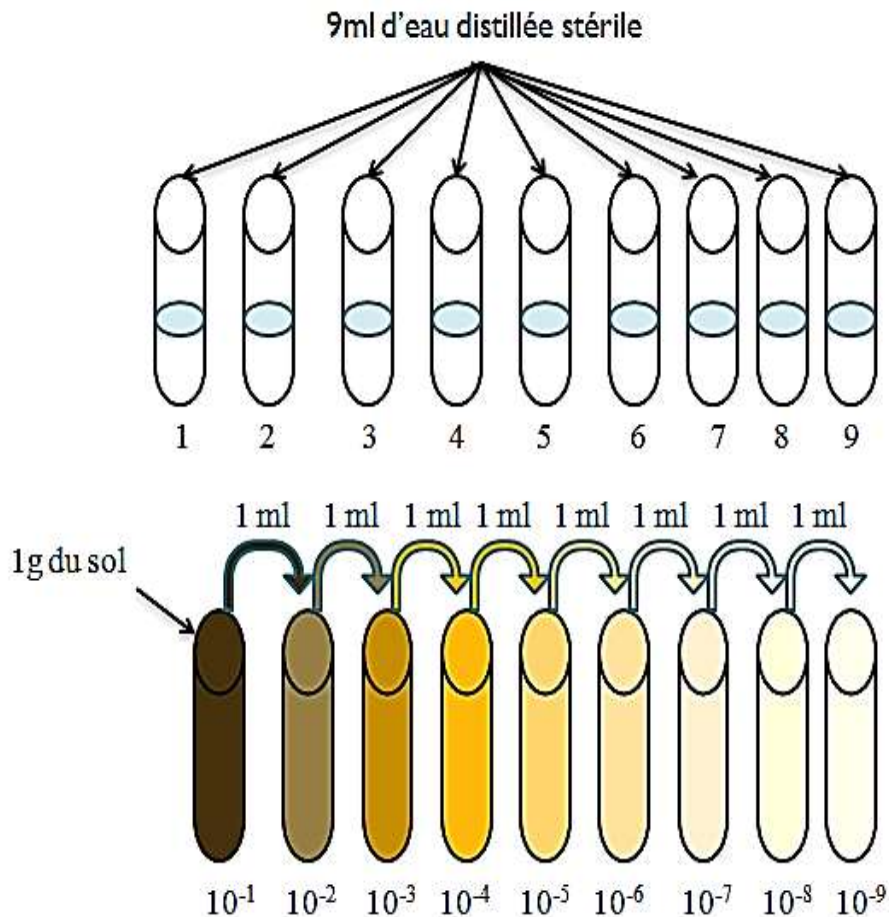
- Salvemini F., (1985). Composizione chimica valutazione biologica di un mangime ottenuto toessicando tercamente le acque di vegetazione delle olive, *Delle Sostanze Grasse*, 112, 559-564.
- Schnurer J., Clarholm M., Rosswall T., (1986). Fungi, bacteria and protozoa in soil from four arable cropping systems. *Biopic. Ferlil Soils*, 2,119-126.
- Sorensen L., (1997). The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms.
- Van Elsas J D., Trevors T., Wellington E M H., *Modern soil microbiology*. Marcel Dekker, INC. New York. 21-45.
- Stolp H., (1988). *Microbial Ecology: organisms, habitats, activities*: Camblidge University Press New York. 308.
- Tate R L., (1995). *Soil microbiology*. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. USA. 398.
- Zinedine M., Mohamed A., Mouna F A., Fatima Zahra E., (2020). The long-term effect of Olive Mill Wastewater (OMW) on organic matter humification in a semi-arid soil.
- Thomashow L S., Weiler D M., Bonsall R F., Pierson L S., (1990). Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* speccies in the rhizosphere of wheat. *Applied and Environmental Microbiology* 56, 908-912.
- Thorn G., (1997). The fungi in soil. In: Van Elsas J.D, Wellington EMH, Trevors ST (Eds. *Modern SoilMicrobiology*, New York Marcel Dekker.63-127.
- Marsilio V., Di giovacchino L., Solinas M., Lombardo N., Briccoli-bati c., (1990). *Hort.*, 286 493-496.
- *Revu Espace géographique et société marocaine* N27., (MAI 2019). Valorisation agronomique des Margines (déchets liquides) par fermentation méthanique.
- Vissers M N., Zock PL., Roodenburg A J., Leenen R., Katan M B., (2002). Apparent absorption of olive oil phenols in humans. *J. Nutrition.*, 132, 409–417.
- Wagner H., Bladf S., Zgainski EM., (1984). *Plant drug analysis*. Translated by Scott ThemSpringer-Verilog.
- Yaakoubi A., Chahlaoui A., Rahmani M., Elyachioui M., Oulhote Y., (2009). Effet de l'épandage des margines sur la microflore du sol. *Agrosolutions*, 20 (1), 35-43.
- Zbakh H., El Abbassi A., (2012). Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: a review. *Journal Fonction Food*, 4, 53-65.

Annexes

Annexes

Annexe 1. Technique de suspension dilution (Pochon, 1954)

On réalise une suspension aussi homogène que possible de terre et à partir de cette suspension on prépare une série de dilution (Pochon, 1954), sachant que la suspension mère est 10^{-1} et la première dilution 10^{-2} et ainsi de suite. Les dilutions ainsi préparées doivent être utilisées immédiatement pour les ensemencements, ceux peuvent être faits sur milieux solides ou liquides qu'ils doivent satisfaire les exigences nutritives du microorganisme étudié (bactérie, actinomycète, champignon, algue,).



Techniques de suspension dilution du sol

Annexe 2. Milieux de culture

A- Milieu de culture pour Bactéries (Pochon, 1954)

- Gélose nutritive 23 g
- Volume d'eau distillée 1 L
- Dissoudre la poudre de la Gélose nutritive dans un litre d'eau distillée, puis autoclaver à 121°C pendant 15min.

B- Milieux culture pour les levures et moisissures (d'après Davet et al. (1985)

- Pomme de terre200 g
- Glucose 20g
- Agar-agar 20g
- Chloramphénicol 0,2 g

Le milieu est préparé suivant les étapes suivantes :

- Faire cuire 200g de pomme de terre pelée, lavée et coupée en tranches fines dans 500ml d'eau distillée pendant 1heure.
- Filtrer sur plusieurs couches d'étamines pour presse.
- Ajouter le glucose et l'Agar à l'extrait.
- Compléter le volume à 1 litre avec de l'eau distillée.
- Autoclaver pendant 18mn à121°C.

C- Eau physiologique pour la suspension mère et les dilutions.

- NaCl..... 9g
- Eau distillée 1L
- Dissoudre la poudre de NaCl (9g) dans un litre d'eau distillée, puis autoclaver à 121°C pendant 15min.

Annexe 3. Réalisation d'un ensemencement en masse (Davet et al.1985).

Un ensemencement en masse est le plus souvent réalisé afin de dénombrer des micro-organismes. Un volume de 1 ml d'inoculum est dispersé dans le fond d'une boîte de Pétri, et le milieu de culture est ensuite coulé par-dessus. Les micro-organismes se développent dans la masse du milieu gélosé, on obtient donc des Unités Formant Colonies.

Annexe4. Matériel et milieux de culture utilisés

Matériel	
Verrerie	Balance de précision, boîtes de pétri, pipette graduée, erlenmeyer, éprouvette, pots, pissette, Micropipette, embouts, agitateur, vortex, tubes à essais, flacons en verre, spatule. Plaque chauffante autoclave, bécher
Produits	Agar-agar, Chloramphénicol, NaCl, eau distillée, glucose, extrait de pomme de terre.
Milieux de culture	Gélose nutritive pour le dénombrement de la flore totale Milieu Potato dextrose agar (PDA) pour le dénombrement des levures et des moisissures

Annexe 5. Croissance de l'orge pendant 22 jours



➤ Jour 22 : l'orge en pleine croissance

