



Ecole Nationale Polytechnique

Département de Génie de l'Environnement

Thèse de Doctorat en Génie de l'Environnement

Thème :

Traitement des sols par voies biologiques

Amel Souhila BELOUHRANI

Présenté(e) et soutenue publiquement le : 25/05/2017

Composition du Jury :

Président : M. Rabah BOUARAB Professeur ENP, Alger

Directeurs de thèse : M. Nabil MAMERI et Mme Nadia ABDI Professeurs...ENP, Alger

Examineurs : Mme. Khadidja ALLIA.....Professeur, USTHB, Alger

M. Mouloud BELLAL.....Professeur ENSA, Alger

M. Madani DROUCHE.....Professeur, ENP, Alger

Mme. Nassima CHIKHI.....Maître de conférence, ENV, Alger

ENP 2017



Ecole Nationale Polytechnique

Département de Génie de l'Environnement

Thèse de Doctorat en Génie de l'Environnement

Thème :

Traitement des sols par voies biologiques

Amel Souhila BELOUHRANI

Présenté(e) et soutenue publiquement le : 25/05/2017

Composition du Jury :

Président : M. Rabah BOUARAB Professeur ENP, Alger

Directeurs de thèse : M. Nabil MAMERI et Mme Nadia ABDI Professeurs...ENP, Alger

Examineurs : Mme. Khadidja ALLIA.....Professeur, USTHB, Alger

M. Mouloud BELLAL.....Professeur ENSA, Alger

M. Madani DROUCHE.....Professeur, ENP, Alger

Mme. Nassima CHIKHI.....Maître de conférence, ENV, Alger

ENP 2017

A la mémoire de mes parents ...

Remerciements

J'exprime mes vifs remerciements à mon Directeur de thèse le Professeur Nabil MAMERI pour avoir accepté de diriger ce travail, et la professeur Nadia ABDI pour en avoir assuré la codirection.

Un grand merci aussi au Professeur Hakim LOUNICI directeur du laboratoire des Biotechnologies Environnementales et de Génie des Procédés (BIOGEP) de l'Ecole Nationale Polytechnique (ENP), pendant la période où j'ai effectué ce travail de recherche, pour avoir mis à ma disposition tous les moyens humains et matériels, qui ont été nécessaires au bon déroulement de ce travail et pour tous les conseils qu'il a su me prodiguer.

J'exprime ma profonde gratitude à la professeur Djazia ARRAR chef de département du génie de l'environnement de l'ENP pour sa gentillesse et ses encouragements.

Mes remerciements vont également aux membres du jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'accepter d'examiner ce travail :

Le professeur Rabah BOUARAB de l'ENP, Président du jury, la professeur ALLIA Khadidja de l'USTHB, le professeur Mouloud BELLAL de l'ENSA, le professeur Madani DROUCHE de l'ENP, et Dr Nassima CHIKHI de l'ENV.

Je remercie le professeur Mohamed el Amine BELOUCHRANI enseignant à l'Ecole Militaire Polytechnique (EMP) de Bordj al Bahri pour son aide précieuse.

Je tiens à remercier également M. Tahar BENYAD chef de département de sécurité alimentaire environnement du laboratoire de la police scientifique de Châteauneuf pour avoir mis à ma disposition l'appareillage pour le dosage des métaux lourds.

الهدف من هذا العمل هو تحديد دور النبات و تحديد دور الكائنات المجهرية في إزالة تلوث التربة بالمعادن الثقيلة. على أساس النتائج المحصل عليها يمكننا الإشارة بأن هذه النباتات سلجم لفت, عشب الأخضر و طماطم الصناعية قادرة على تحمل كميات معتبرة من المعادن الثقيلة , أما بالنسبة لدراسة الكائنات المجهرية أثبتت النتائج حموضة المحاليل المزودة بالوسط الغذائي في نهاية التجربة, الوسط الغذائي حفز الكائنات المجهرية الي إفراز مواد أدت الى حموضة المحاليل مما سبب حركية وارتفاع الزنك في المحلول . على أساس هذه النتائج نستطيع القول أن المعادن الثقيلة تتأثر بالكائنات المجهرية للتربة, و كذلك نتائج العلاج النباتي أثبتت أن سلجم لفت, و العشب الأخضر مع الطماطم الصناعية نباتات قادرة على إزالة التلوث من المعادن الثقيلة الموجودة في التربة و إنما العائق الوحيد للعلاج النباتي هو

Abstract: The objective of this work is to decontaminate soils polluted with heavy metals, by biological method, using the bioremediation and the phytoremediation. These results obtained of the bioremediation highlighted the role of the micro-organisms of the soil in the treatment of a soil polluted by zinc. The phytoremediation, we studied the effect of the increase in the concentrations of Zn on the development of the morphological parameters of canola. These results showed that the morphological parameters are not affected by the increase in the concentrations of zinc. The decontaminate an urban soil contaminated with heavy metals (Zn and Cr), one used the grass and industrial tomato. These results showed that the two plants are hyperaccumulator for chromium and zinc. The technic of the decontaminate of the soil by biological method is a recent technic, which is integrated in the durable development. From this research this reveals that the following plants: canola, the grass and the industrial tomato are hyper-accumulating plants, and that the micro-organisms of the soil have the capacity to decontaminate soils polluted with Zn. The only disadvantage of the decontaminate soils polluted by biological method it is the time of the treatment.

Keywords: Canola (*Brassica napus* L), zinc, soil remediation, phytoremediation

Résumé : L'objectif de ce travail est de dépolluer un sol contaminé par les métaux lourds, par des voies biologiques en utilisant la bioremediation et la phytoremediation. Les résultats obtenus de la bioremediation ont mis en relief le rôle des micro-organismes du sol dans le traitement d'un sol pollué par le zinc. Pour la phytoremediation, nous avons étudié l'effet de l'augmentation des concentrations du Zn sur le développement des paramètres morphologiques du colza. Les résultats ont montré que les paramètres morphologiques ne sont pas affectés par l'augmentation des concentrations du zinc. Concernant la dépollution d'un sol urbain contaminé par les métaux lourds (Zn et Cr), on a utilisé le gazon et la tomate industrielle. Les résultats ont montré que les deux plantes sont hyper-accumulatrices pour le chrome et le zinc. La technique de la dépollution du sol par voie biologique est une technique récente, qui s'intègre dans le développement durable. De cette recherche il en ressort que les plantes suivantes : le colza, le gazon et la tomate industrielle sont des plantes hyper-accumulatrices vis-à-vis du zinc et du chrome, et que les micro-organismes du sol ont la capacité de dépolluer un sol contaminé par le zinc. Le seul inconvénient de la dépollution du sol par voie biologique c'est le temps du traitement.

Mots clés : Colza (*Brassica napus* L), zinc, remediation sol, phytoremediation.

TABLE DES MATIERES.....	Pages
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION GENERALE	15
Chapitre I: La pollution du sol	18
I.1 -Sources de pollution	18
I.2- Les principaux polluants du sol	18
I.2.1- Les polluants organiques du sol.....	19
I.2.2- Les polluants inorganiques du sol	19
I.2.2.1- Les métaux lourds	19
I.3 - La pollution des sols par les métaux.....	20
I.3.1- Caractères principaux des ETM	20
I.3.2- Toxicité des ETM	21
I.3.3- Origine de la contamination des sols par les métaux lourds	20
I.3.3.1- Origine naturelle	21
I.3.3.2- Origine anthropique.....	22
I.3.3.2.1- Trafic routier	22
I.3.3.2.2- L'activité industrielle.....	22
I.3.3.2.3- L'activité agricole	22
I.3.3.2.4- Les décharges et les émissions d'incinération.....	23
I.3.3.2.5- Les boues d'épuration	23
I.4- Localisation des ETM dans le sol	24
I.5- Mobilité et biodisponibilité des ETM.....	24
I.5.1- Le pH.....	25
I.5.2- Le potentiel redox (Eh)	26
I.5.3- L'activité biologique.....	26
I.5.4- Mécanismes d'interactions des ETM avec les constituants du sol.....	28
I.5.4.1- L'adsorption	29
I.5.4.1.1- Adsorption non spécifique.....	29
I.5.4.1.2- Adsorption spécifique	30
I.5.4.2- Compléxation	30

I.5.4.3- Précipitation, co-précipitation.....	32
I.6 -Les ETM dans le sol en Algérie	32
I.7- Particularités des métaux lourds (ETM)	33
I- 7- 1- Le zinc (Zn)	33
I- 7- 2- Le cadmium (Cd)	34
I-7-3- Le chrome (Cr)	34
I- 7- 4- Le fer (Fe).....	35
Chapitre II: Techniques biologiques de dépollution des sols.....	36
II.1- La bioremédiation.....	36
II.1.1- Définition	36
II.1.2-Principe	36
II.1.3-Les techniques de bioremédiation	36
II.2.-La phytoremédiation	37
II.2.1- Définition.....	37
II.2.2- Phytoextraction des sols contaminés par les métaux lourds.....	38
II.2.3- Intérêts de la phytoremédiation.....	39
II.2.4 -Les limites de la phytormédiation.....	39
Chapitre III: Relation sol –micro-organismes.....	40
III.1 - Eau – sol – micro-organismes.....	40
III.1.1 - Effet de la dessiccation.....	40
III.1.2 -Effet de la réhydratation.....	40
III.2 - pH - sol - micro-organisme.....	41
III.2.1 - pH – équilibres microbiens.....	41
III.2.2 - Effet du pH sur les charges superficielles des parois.....	41
III.3 - Argiles - sol - micro-organismes.....	42
III.3.1 - Effet des argiles sur les populations du sol.....	42
III.3.2 - Effet des argiles sur l’entraînement vertical	42
III.4 -Température – sol	42
III.4.1 – Effet direct de la température sur les microorganismes.....	43
III.4.2 – Effet de la température sur les équilibres microbiens.....	43
III.5 – Les composés xénobiotiques.....	43
III.5.1 – Effet dépressif maximum et temps de rétablissement.....	44
III.5.2 – Effet des pesticides.....	44

III.5.3 – Effet des métaux lourds (ETM).....	44
Chapitre IV: Le transfert sol- plante des ETM.....	46
IV.1-Pénétration des ETM par la partie aérienne.....	46
IV.2-Prélèvement des ETM par les racines.....	46
IV.2.1-Mécanismes de prélèvement des ETM.....	47
IV.2.1.1-La phytodisponibilité.....	47
Chapitre V: Matériel et méthodes.....	49
Section 1: la bioremediation.....	49
V.1-Matériel d'étude.....	49
V.1.1- sol	49
V.1.2- Matériel utilisés.	49
V.2-Méthodes d'études.....	51
V.2.1-Dosage du zinc.....	51
V.2.1.1-Dosage par spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA).....	51
a-Principe de la spectrophotométrie d'absorption atomique.....	51
b-Dosage proprement dit.....	52
V.3-Méthode d'analyse des caractéristiques du sol.....	52
V.4-Préparation des échantillons du sol pour l'étude expérimentale	53
V.5-Conduite de l'étude expérimentale.....	54
Section 2: la phytoremediation.....	55
Etude de l'effet des doses croissantes du zinc sur les paramètres morphologiques du colza.....	55
V.6-Matériels d'études.....	55
V.7-Méthodologie du travail.....	57
V.7.1-Préparation des solutions de traitements	57
V.7.2-Protocol expérimental.....	58
V.7.2.1-Test de germination	58
V.7.2.2- La serre.....	58
V.7.2.3 -Semis.....	58
V.7.2.4 -Conduite de l'expérimentation.....	58
Dépollution d'un sol urbain contaminé par les métaux lourds	60
V.8-Matériel.....	60
V.8.1-Milieu physique.....	60

V.8.2-Sol.....	60
V.8.3-Végétal.....	60
V.9-Méthodes.....	61
V.9.1-Conduite de l'expérimentation.....	61
V.9.2-Préparation de la verrerie.....	61
V.9.3-Préparation des échantillons du sol.....	61
V.9.4-Extraction chimique des métaux lourds dans le sol et le végétal.....	61
V.9.5-Méthodes d'extraction.....	62
V.9.6-Analyses des différentes formes d'ETM.....	65
V.9.6.1-Analyse de la forme soluble des ETM (Cr et Zn).....	65
V.9.6.2-Analyse de la forme échangeable des ETM (Cr et Zn).....	66
V.10- Dosage des métaux lourds (Cr et Zn) dans le sol et les plantes	66
Chapitre VI: Résultats et discussion	67
Section1: Résultats de la bioremediation.....	67
VI.1-Caractéristiques du sol.....	67
VI.1.1-Le pH.....	67
VI.1.2-Le Calcaire total.....	67
VI.1.3-La conductivité électrique (CE)	67
VI.1.4-Le Phosphore échangeable.....	67
VI.1.5-Le Potassium échangeable.....	67
VI.1.6-La teneur naturel (teneur initiale du zinc dans le sol).....	67
VI.1.7 -Le taux de matière organique (MO%).....	68
VI.1.8-Azote total.....	68
VI.1.9-Le rapport C/N.....	68
VI.1.10-Azote assimilable.....	68
VI.1.11-Capacité d'échange cationique (CEC).....	68
VI.1.12-La texture du sol.....	68
VI-2-Mesure du pH et de la concentration du zinc dans les solutions du sol (A,B,C,et D) ...	70
Section 2: Résultats de la phytoremediation.....	76
VI.3-Résultats de l'effet des concentrations croissantes du zinc sur le développement du colza.....	76
VI.3.1-La hauteur de la partie aérienne.....	76
VI.3.1.1-Premier prélèvement.....	77

VI.3.1.2-Deuxième prélèvement.....	77
VI.3.1.3-Troisième prélèvement	77
VI.3.1.4-Quatrième prélèvement	77
VI.3.1.5-Cinquième prélèvement	77
VI.3.2-La longueur des racines.....	78
VI.3.2.1-Premier prélèvement.....	79
VI.3.2.2-Deuxième prélèvement.....	79
VI.3.2.3-Troisième prélèvement	79
VI.3.2.4-Quatrième prélèvement.....	79
VI.3.2.5-Cinquième prélèvement	79
VI.3.3-Le nombre de feuilles.....	80
VI.3.3.1-Premier prélèvement	81
VI.3.3.2-Deuxième prélèvement.....	81
VI.3.3.3-Troisième prélèvement	81
VI.3.3.4-Quatrième prélèvement	81
VI.3.3.5-Cinquième prélèvement	81
VI.3.4-Le rendement en matière fraîche.....	82
VI.3.4.1-Premier prélèvement	83
VI.3.4.2-Deuxième prélèvement	83
VI.3.4.3-Troisième prélèvement	83
VI.3.4.4-Quatrième prélèvement	83
VI.3.4.5-Cinquième prélèvement	84
VI.3.5-Le rendement en matière sèche.....	84
VI.3.5.1-Premier prélèvement	85
VI.3.5.2-Deuxième prélèvement	85
VI.3.5.3-Troisième prélèvement	85
VI.3.5.4-Quatrième prélèvement	85
VI.3.5.5-Cinquième prélèvement	86
VI.4-Indice de tolérance en Zn.....	86
VI.5-Dépollution d'un sol urbain contaminé par les métaux lourds.....	88
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	98
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	100
ANNEXE.....	108

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Différents types des métaux lourds en fonction de leurs effets physiologiques et de leur toxicité.

Tableau I.2 : Comportement des éléments traces métalliques avec les différentes fractions du sol.

Tableau I.3 : Les quantités rejetées des différents déchets par an.

Tableau I.4 : Taux d'émission de quelques ETM en Algérie (mg/kg/an).

Tableau II.1 : Les différents types des techniques de la biorémediation.

Tableau II.2 : Les types de phytoremediation utilisés dans la dépollution des métaux lourds.

Tableau V.1: Les différents produits chimiques utilisés.

Tableau. V.2: Les méthodes d'analyse des caractéristiques du sol.

Tableau. V.3 : Concentrations du zinc appliquées.

Tableau V.4 : Quantités en mg de produit $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ utilisées par pot de chaque concentration du zinc.

Tableau V.5 : Quantités en mg de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ utilisés pour les 13 pots de chaque concentration du zinc.

Tableau V.6 : Méthodes d'extraction des éléments-traces du sol normalisées ou proposées à la normalisation en Europe.

Tableau VI.1 : Résultats des caractéristiques du sol.

Tableau VI.2 : Moyennes des hauteurs des tiges en (cm) à chaque prélèvement.

Tableau VI.3 : Corrélations entre les hauteurs des tiges et les doses croissantes du Zn à chaque prélèvement.

Tableau VI.4 : Moyennes des longueurs des racines en (cm) à chaque prélèvement.

Tableau VI.5 : Corrélations entre les longueurs des racines et les concentrations du Zn à chaque prélèvement.

Tableau VI.6 : Moyennes du nombre des feuilles à chaque prélèvement.

Tableau VI.7 : Corrélations entre le nombre de feuilles et les concentrations croissantes du Zn à chaque prélèvement.

Tableau VI.8 : Moyennes du rendement en poids frais en (g /pot) à chaque prélèvement.

Tableau VI.9 : Corrélations entre les rendements en poids frais et les concentrations croissantes du Zn à chaque prélèvement.

Tableau VI.10: Moyennes du rendement en poids sec en (g/pot) à chaque prélèvement.

Tableau VI.11 : Corrélations entre les rendements en poids sec et les concentrations croissantes du Zn à chaque prélèvement.

Tableau VI.12 : Valeur de l'indice de tolérance au Zn du colza en fonction du temps.

Tableau VI.13 : Les teneurs des métaux lourds dans le gazon en mg/kg.

Tableau VI.14 : Les teneurs des métaux lourds dans la tomate industrielle en mg/kg.

Tableau VI.15 : Teneurs en Zn dans le sol pollué et sol témoin avant et après expérimentation pour le gazon (mg/kg) .

Tableau VI .16: Teneurs en Cr dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour le gazon (mg/kg).

Tableau VI. 17 : Teneurs en Zn dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour la tomate industrielle (mg/kg).

Tableau VI.18 : Teneurs en Cr dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour la tomate industrielle (mg/kg).

Liste des figures et des photos

Figure I.1 : Schéma illustrant l'effet de la spéciation de la mobilité des ETM sur leur disponibilité.

Figure I.2. : Différentes formes et mécanismes de fixation des ETM dans le sol.

Photo V.1 : pH mètre utilisé pour l'expérimentation.

Photo V.2 : Dispositif utilisé pour l'agitation des solutions.

Photo V. 3 : Vue générale des solutions du sol de notre expérimentation.

Figure V.1 : Schéma du spectrophotomètre d'absorption atomique.

Figure V. 2 : Schéma du dispositif expérimental en bloc aléatoire.

Figure VI .1: Variation du pH en fonction du temps de la solution A (solution du sol) témoin.

Figure VI. 2 : Variation de la concentration du Zn en fonction du temps de la solution A (solution du sol) témoin.

Figure VI .3 : Variation du pH en fonction du temps de la solution B (Solution du sol +solution nutritive).

Figure VI .4: Variation de la concentration du Zn (mg/kg) en fonction du temps de la solution B (Solution du sol + solution nutritive).

Figure VI .5: Variation du pH en fonction du temps de la solution C (Solution du sol + zinc).

Figure VI. 6 : Variation de la concentration du Zn (mg/kg) en fonction du temps de la solution C (solution du sol + zinc).

Figure VI .7: Variation du pH en fonction du temps de la solution D (Solution du sol+ zinc+ solution nutritive).

Figure VI.8 : Variation de la concentration du Zn (ppm) en fonction du temps de la solution D (solution du sol+ zinc+ solution nutritive).

Figure VI.9 : Métaux lourds dans les tissus végétaux du gazon

Figure VI.10 : Métaux lourds dans les tissus végétaux de la tomate industrielle

Figure VI .11: Teneurs en Zn dans le sol pollué et sol témoin avant et après expérimentation pour le gazon.

Figure VI .12: Teneur de la forme assimilable du Zn pour le gazon.

Figure VI .13 : Teneurs en Cr dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour le gazon.

Figure VI .14: Teneur de la forme assimilable du Cr pour le gazon

Figure VI.15 : Teneurs en Zn dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour la tomate industrielle

Figure VI .16: Teneur de la forme assimilable du Zn pour la tomate industrielle

Figure VI .17: Teneurs en Cr dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour la tomate industrielle.

Figure VI .18: Teneur de la forme assimilable du Cr pour la tomate industrielle

Liste des abréviations

A : Argile

ADEME : Agence de L'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie

AFNOR : Association Française de Normalisation

CAH : Complexe Argilo-Humique

CE: Conductivité Electrique

CEC : Capacité d'Echange Cationique

CO : Carbone Organique

Eh : Potentiel Redox

ENSA : Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ex : INA)

ETM : Eléments Traces Métalliques

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

LF : Limons Fins

LG : Limons Grossiers

MO : Matière Organique

MOD : Matière Organique Dissoute

MON : Matière Organique Naturelle

R : répétition

SAA : Spectrophotométrie d'Absorption Atomique

SF : Sables Fins

SG: Sables Grossiers

SH : Substances Humiques

USDA: United State Department of Agriculture

Introduction générale

Parmi les contaminants les plus toxiques fréquemment rejetés dans l'environnement figurent les métaux lourds, la présence de ces métaux lourds dans le sol peut entraîner des effets néfastes tant sur l'écosystème que sur la santé humaine (**Wang et al, 2003 ; 2014 ; Girad et al, 2005**). Sachant que sol est le support de toute production animale et/ou végétale, ces dernières décennies, les sols font l'objet de nombreuses menaces. Ces menaces sont liées d'une part à l'utilisation des sols de qualité pour l'urbanisation et les transports, d'autre part leur dégradation physique chimique et biologique, sous l'effet conjugué de facteurs d'origine diverse (atmosphérique, agricole, urbaine, et industrielle). Quelle que soit les processus naturels ou anthropiques, les sols sont tous exposés à différents types de pollution : organique ou inorganique. La pollution inorganique est causée par les métaux lourds, et est considérée comme étant la plus préoccupante car ces éléments métalliques sont dangereux et révèlent deux types d'impact, l'Impact toxicologique : bien que certains métaux lourds sont essentiels à la vie (comme le zinc), l'impact toxicologique des ETM dépend de leur forme chimique, de leur concentration, du contexte environnemental, et de la possibilité de leur passage dans la chaîne alimentaire (**Baize, 1997 ; Tang et al, 1998 ; Delorme et al, 2001 ; Fässler et al, 2010**). Le second Impact est l'impact environnemental : contrairement à la pollution organique qui est biodégradable les métaux lourds (zinc, cuivre, chrome ...), et métalloïdes (sélénium, arsenic...) persistent dans l'environnement et s'accumulent inévitablement. Ils peuvent migrer vers les eaux de surfaces, ou souterraines ou pénétrer dans la chaîne alimentaire via les végétaux pour se retrouver dans les animaux et éventuellement dans l'homme (**Pereira et Sonnet, 2007**). C'est à partir des années 70 que les travaux de dépollution du sol (identification et réhabilitation) ont été entamés, les différentes techniques utilisées étaient : dépollution par remplacement (remplacement du sol pollué par un sol sain), et dépollution par lavage du sol ou par une autre méthode physico-chimique (extraction par aspiration qui concerne les éléments polluants volatils et semi volatils dans un sol sableux, extraction par chauffage pour éliminer la matière organique). Mais en 1990, une évolution des mécanismes utilisés a contribué à l'usage des techniques biologiques dites « bioremediation et phytoremediation » qui se basent sur la capacité de certains êtres vivants à filtrer et accumuler les éléments toxiques en utilisant des micro-organismes et/ ou les plantes pour dépolluer l'air, l'eau et le sol, d'où la naissance d'une nouvelle technique (**Raskin et al, 1994 ; Rufus et al, 1997 ; Shwartz et al, 2001**).

Au cours de ces 20 dernières années, beaucoup de pays industrialisés adoptent la gestion des sols et des sites pollués par des éléments métalliques en déterminant le devenir, la tolérance et l'accumulation des métaux dans la végétation spontanée, ce qui constitue une nouvelle méthode de bio-dépollution (**Raskin et al,1997;Remon,2006**). La dépollution des sites contaminés est une préoccupation majeure, en raison d'une part, de l'impact de cette pollution sur l'environnement et la santé, liée notamment à la propagation des molécules dangereuses dans le milieu et leur transfert dans les nappes phréatiques et dans la chaîne alimentaire. La réhabilitation des sols pollués a créé un marché important favorisant le développement de diverses technologies qui font appel pour la plupart à des procédés physiques et physico-chimiques après excavation (lavage sous haute pression, lixiviation par des acides, traitements thermiques, ou encore électro migration). L'inconvénient de ces techniques est qu'elles détruisent les propriétés du sol destiné à l'agriculture et ne sont pas applicables sur des grandes surfaces (**Girrad et al, 2005**). Les nouvelles approches de traitement des sols pollués sont plus respectueuses de l'environnement, elles reposent sur l'utilisation des voies biologiques, cette dépollution par voie biologique est basée sur le métabolisme et l'activité des organismes vivants : bactéries, champignon, et/ou végétaux. Quand la dépollution du sol repose sur l'utilisation de végétaux, on parle de phytoremediation, si elle repose sur l'utilisation des micro-organismes elle est appelée bioremediation. Cette recherche a un double objectif: le premier est l'étude de l'interaction des micro-organismes avec les métaux lourds, il s'agit d'étudier le rôle des micro-organismes dans la bioremediation des sols pollués par le zinc (Zn).

La question qu'on se pose est la suivante : Est-ce que les micro-organismes peuvent contribuer à la dépollution du sol des métaux lourds ? Pour cette étude on a pris le zinc comme métal lourd. Sur le plan agronomique le Zn est un oligo-élément nécessaire à la nutrition minérale des plantes mais en excès le Zn se transforme en métal lourd. Le second objectif de cette recherche concerne la phytoremediation il s'agit d'étudier l'effet des concentrations croissantes du zinc sur le développement du colza. La question posée est la suivante : Est-ce-que le colza (*Brassica napus.L*) a une aptitude à accumuler le zinc qui se trouve dans le sol ? Autrement dit, est-ce-que des concentrations élevées en zinc ont un effet sur les paramètres morphologiques de cette espèce? D'une part, D'autre part, il s'agit d'étudier la dépollution d'un sol urbain contaminé par les métaux lourds en utilisant les plantes suivantes: le gazon, et la tomate industrielle.

Pour répondre à ces questions nous avons fractionné notre travail en six chapitres: la synthèse bibliographique englobe quatre chapitres dans un premier chapitre: la pollution du sol; le deuxième chapitre traite les techniques biologiques de dépollution des sols. Le troisième chapitre est consacré à la relation sol- plante –microorganismes, et le quatrième apporte des données bibliographiques sur le transfert sol-plante des éléments traces métallique (ETM) ou métaux lourds. Le chapitre cinq traite le matériel et méthodes d'études. On présente la description du matériel utilisé lors de notre expérimentation ainsi que la méthodologie. Ce chapitre comporte deux sections, la première traite la bioremediation, et la seconde traite la phytoremediation. Le chapitre six contient deux sections, la section 1 comporte les résultats et discussions de la bioremediation et la section 2 traite les résultats et discussions de la phytoremediation. Une conclusion générale et quelques perspectives closent ce travail.

Chapitre I : La pollution du sol

La pollution est une modification défavorable du milieu naturel directe ou indirecte à la suite d'une action humaine. Ces modifications peuvent affecter l'homme directement ou à travers des ressources en produits agricoles, en eau, et autres produits biologiques.

Le sol constitue l'élément essentiel des biotopes propres aux écosystèmes continentaux et beaucoup de substances qui parviennent dans le sol peuvent être dangereuses pour les micro-organismes, les plantes, les animaux et les êtres humains (**Grisson, 2012**). Le sol est un réservoir de métaux de natures et d'origines diverses, lithogène ou de synthèse, endogène ou anthropiques. La pollution est définie comme étant l'accumulation d'un composé en quantité telle qu'il peut induire un danger pour les organismes vivants. Selon (**Ramade, 2005**), le terme de pollution désigne les effets de l'ensemble des composés toxiques que l'Homme libère dans l'écosphère.

I.1 -Sources de pollution

L'origine de la pollution du sol peut être multiple. On peut citer entre autres:

- Installations de production et de stockage;
- Emissions atmosphériques (par retombées, cas des métaux lourds);
- Dépôts de déchets;
- Réseaux d'eau résiduaire;
- Accidents (les incendies, Les accidents de transport peuvent conduire à une pollution des sols par l'effet d'entraînement des eaux qui s'infiltrent);
- Excès de fertilisation des sols.

D'autres causes de pollution peuvent résulter de fait de guerre (sabotage, bombardement, destruction des stockages d'hydrocarbure).

I.2. Les principaux polluants du sol

L'un des sujets qui préoccupe le plus les agriculteurs est la crainte d'introduire dans les sols des éléments traces (ET) ou des polluants organiques (PO) susceptibles de contaminer les sols et les cultures. (**Girard et al , 2005**).

I.2.1. Les polluants organiques du sol

Les polluants organiques des sols proviennent principalement de trois ensembles d'activités : industrielles (production d'énergie, métallurgie, industrie chimique...), urbaines (transport, gestion et traitement des déchets), et agricoles (traitement phytosanitaires, fertilisation).

Les polluants organiques des sols les plus couramment impliqués dans des pollutions diffuses appartiennent aux familles suivantes :

- Les hydrocarbures aromatiques polycycliques(HAP) ;
- Les polychlorobiphényles (PCB) ;
- Les polychlorodibenzo-dioxines(PCDD) et polychlorodibenzo-furanes (PCDF) ;
- Les composés organiques volatils(COV) ;
- Les pesticides.

I.2.2. Les polluants inorganiques du sol

I.2.2.1. Les métaux lourds

Ce sont des métaux formant des précipités insolubles avec des sulfures (**Baize, 1997;Ken Giller et al, 1998;Tremel-Shaub et Feix, 2005**). Pour d'autres, ce sont des éléments métalliques dont la masse volumique est supérieure à 6g.ml^{-1} , parfois la définition donne une limite de $4.5\text{ou}5.0\text{g.ml}^{-1}$ (**Baize, 1997**). Les métaux lourds sont réputés toxiques, alors que certains sont des Oligo-éléments (Zn, Cu).C'est pourquoi le terme de métal lourd est souvent appliqué à tort à des éléments en raison de leur toxicité (**Baize, 1997;Demim et al, 2013a ; Tang et al, 1998, Delorme et al 2001, Tremel-Shaub et Feix, 2005 ; Pereira et sonnet, 2007, Fassler et al, 2010**). D'un point de vue purement chimique, les éléments de la classification périodique formant des cations en solution sont des métaux.D'un point de vue physique, le terme « métaux lourds » désigne les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes (environ 65 éléments), caractérisés par une forte masse volumique supérieure à 5 g/cm^3 (**Adriano, 2001**).Sur le plan biologique, on en distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques: métaux essentiels et métaux toxiques (Tableau I.1)

Tableau I. 1: Différents types des métaux lourds en fonction de leurs effets physiologiques et de leur toxicité.

Métaux essentiels	Métaux toxiques
Les métaux essentiels sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires, présents en proportion très faible dans les tissus biologiques (Loué, 1993). Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe). Par exemple, le zinc (Zn) est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques (déshydrogénases, protéinases, peptidases) et joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides (Kabata-Pendias et Pendias, 2001).	Les métaux toxiques ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd). Le terme métaux lourds, « heavy metals », implique aussi une notion de toxicité. Le terme « éléments traces métalliques » est aussi utilisé pour décrire ces mêmes éléments, car ils se retrouvent souvent en très faibles quantités dans l'environnement (Baker et Walker, 1989).

I. 3 - La pollution des sols par les métaux

I.3.1. - caractères principaux des ETM

Les ETM existent dans l'environnement sous cinq formes principales : échangeables, liées aux carbonates, liées aux oxydes de fer et de manganèse, liées à la matière organique et à divers résidus (**Tessier et al, 1979 in Remon, 2006**), avec une densité plus ou moins élevée, qui varie selon les éléments, les ETM sont généralement insolubles dans l'eau. Leur solubilité ou leur tendance à la mobilisation par lessivage ou par ruissellement dépend de l'élément lui-même, des conditions chimiques de la phase aqueuse (pH, potentiel d'oxydoréduction, concentration en ligands), et des phases solides environnantes. Leur solubilité diminue lorsque le pH augmente, passant par un minimum, puis augmente quand l'élément se retrouve sous forme anionique (**Deschamps, 2006**). La biodisponibilité (c'est-à-dire les propriétés d'une espèce chimique ou d'un élément présent dans le sol, d'être plus ou moins absorbé par les organismes vivants via la solution du sol de ces éléments pour les organismes vivants est déterminée par leur aptitude à modifier leur mobilité, et par leur spéciation dans les phases solide et liquide du sol (**Remon, 2006; Baize, 2002**). Un élément métallique peut aboutir dans la solution du sol en passant successivement dans des compartiments d'énergie de rétention décroissante, et être facilement absorbé par les racines des plantes.

I.3.2- Toxicité des ETM

La toxicité des ETM résulte toujours d'une grande disponibilité dans le sol, ce qui n'a pas toujours un lien direct avec la teneur totale du sol en ETM. Le pH est souvent le facteur principal. Un pH bas ou acide augmente la disponibilité des ETM sauf pour le molybdène pour lequel c'est l'inverse (**Tran et al, 1995**). A une concentration optimum, de nombreux ETM sont essentiels à la vie et remplissent plusieurs fonctions importantes dans les processus biologiques. Absorbés en grandes quantités, ces mêmes ETM peuvent s'avérer nocifs, et occasionner divers problèmes (**Bisson et al., 2005**). Cette toxicité n'est plus à démontrer, des maladies imputables aux ETM, sont connues depuis l'antiquité romaine: des pots et des conduites et aussi les fonderies de plomb étaient tenus responsables de la perte d'intelligence des enfants et du comportement anormal des adultes (saturnisme). La toxicité des ETM est généralement chronique liée à l'absorption continue de faibles quantités instantanées, mais rarement aiguë, liée à l'absorption accidentelle de fortes quantités. Elle dépend de la forme chimique des ETM, de leur concentration, du contexte environnemental, et surtout de la possibilité de passage dans la chaîne alimentaire des êtres vivants (**Kabata-Pendias et Pendias, 1992**).

I.3.3- Origine de la contamination des sols par les métaux lourds

A l'échelle planétaire, les éléments traces métalliques sont présents naturellement dans la croûte terrestre, dans l'air, l'eau et dans les organismes vivants à l'exception de certains ETM toxiques: Cd, Pb, et Hg, et les quantités sont les mêmes, par contre leur localisation et leurs formes chimiques peuvent être modifiées par l'intervention de l'homme, qui peut moduler leur concentration suivant les milieux et les espèces. On sépare classiquement les ETM selon leur origine en deux catégories : naturelle (c'est le résultat du fond pédogéochimique) et anthropiques (**Anonyme, 1999**).

I.3.3.1- Origine naturelle

Les métaux lourds sont présents naturellement dans les roches, ils sont libérés lors de l'altération de celles-ci pour constituer le fond géochimique. La concentration naturelle de ces métaux lourds dans les sols varie selon la nature de la roche, sa localisation et son âge (**Bourrelier et Berthelin, 1998**).

I.3.3.2 Origine anthropique

Dans certaines zones ou dans certaines parcelles, la présence marquée de métaux lourds est directement liée à l'activité humaine. Il existe toute une gamme d'apports en métaux lourds. L'homme est probablement responsable de la modification de la composition des sols en éléments traces, que cela soit à travers l'agriculture, la pollution atmosphérique ou par l'ensemble de ses activités (Baize, 2002).

I.3.3.2.1-Trafic routier

Sur les routes, on peut observer des dépôts de métaux agglutinés avec les huiles de carter, et de l'usure des pneus. Les particules de ces derniers accroissent les teneurs en zinc et en cadmium des sols et de la végétation le long des axes routiers. Pour le plomb, les gaz d'échappements sont à l'origine de la contamination des sols situés à proximité des grands axes routiers (Tonneau, 2003).

I.3.3.2.2- L'activité industrielle

Elle est considérée comme l'une des principales sources des ETM dans l'environnement. La combustion du charbon par exemple engendre des effluents gazeux; les émissions gazeuses provenant des fonderies et des cimenteries ; les usines spécialisées dans la fabrication des pigments, pour peintures et encres, qui rejettent des effluents chargés de Cd, Pb, Zn, et Cr (Tonneau, 2003). Divers autres industries, comme les usines des piles et batteries ou de composés électroniques rejettent des éléments en traces dans l'environnement. La pollution industrielle provenant des usines de production de l'activité humaine tels que les matières organiques et graisses (industries agro-alimentaires), les matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs) et la métallurgie (Godin et al, 1985). Les déchets miniers sont également une source particulièrement importante de pollution par le zinc, le plomb et le cadmium.

I.3.3.2.3-l'activité agricole

Les pratiques agricoles ont pour objectif de permettre une production optimale, l'usage non raisonné des engrais et des produits phytosanitaires peut entraîner l'accumulation des

résidus potentiellement dangereux. Parmi les produits utilisés dans l'agriculture, qui sont à l'origine de l'augmentation des ETM, dans le sol, on peut citer :

- Les matières fertilisantes : elles regroupent en général les engrais, les amendements, et globalement, tous les produits qui sont destinés à assurer ou à améliorer la nutrition des végétaux ainsi que les propriétés physiques, chimiques ou biologiques des sols. L'utilisation intensive et incontrôlée de ces engrais est à l'origine de l'enrichissement des sols agricoles par les ETM, essentiellement les engrais phosphatés qui selon leurs origines peuvent enrichir les sols en chrome, en cuivre, en nickel et en particulier en cadmium (3.5g de Cd par hectare et par an) **(Robert, 1996 ; Baize et Tercé, 2002)**.
- Les pesticides: de nombreux pesticides contribuent de manière importante à la contamination des sols par les ETM. L'utilisation de produits à base d'arsenic (pour contrôler les parasites des vignes) et de sels de mercure (employé comme fongicides) **(Baize, 1997)**.

I.3.3.2.4- Les décharges et les émissions d'incinération

Les ETM sont généralement présents dans les décharges. Des études sur les lixiviats (qui sont les eaux météoriques qui, en percolant à travers la décharge, se chargent d'éléments polluants minéraux et organiques **(Khettabi, 2002)**) ont montré qu'il restait 99,9% du stock des métaux dans la décharge au bout de 30 ans **(Tonneau, 2003)**. Après incinération, les métaux ne sont pas détruits et sont souvent rejetés dans l'environnement sous des formes plus concentrées et plus dangereuses. La combustion à haute température rejette de nombreux métaux toxiques tels le Pb, Cd, As, Hg et Cr contenus dans les déchets, notamment dans les piles, les peintures ainsi que certaines matières plastiques.

I.3.3.2.5- Les boues d'épuration

Les déchets solides issus de traitement des effluents (déchets liquides), domestiques et industriels rejetés dans les égouts forment les boues d'épuration chargés en ETM. Ces ETM ont essentiellement pour origines les rejets domestiques (produits ménagers, canalisation), les eaux pluviales et de ruissellement, et les rejets aqueux, industrielles ou artisanaux. Les boues concentrent entre 70 et 90% des quantités d'ETM des eaux usées de

la station d'épuration. De ce fait, leur épandage, non contrôlé, en outre, accroît la concentration de ces derniers dans les sols (Colinet, 2003).

I.4-Localisation des ETM dans le sol

Dans les sols, les ETM se répartissent entre la phase solide et la phase liquide qui constituent ces sols. Le plus souvent, la quantité existant dans la solution du sol ne représente qu'un infime pourcentage de la totalité du polluant. Les ETM se concentrent donc dans la fraction solide du sol, où ils se répartissent dans les différentes fractions organiques et minérales comme cela est indiqué par le tableau I. 2.

Tableau I. 2 : Comportement des éléments traces métalliques avec les différentes fractions du sol (Bourrelier et al, 1998 ; Baize et Tercé, 2002).

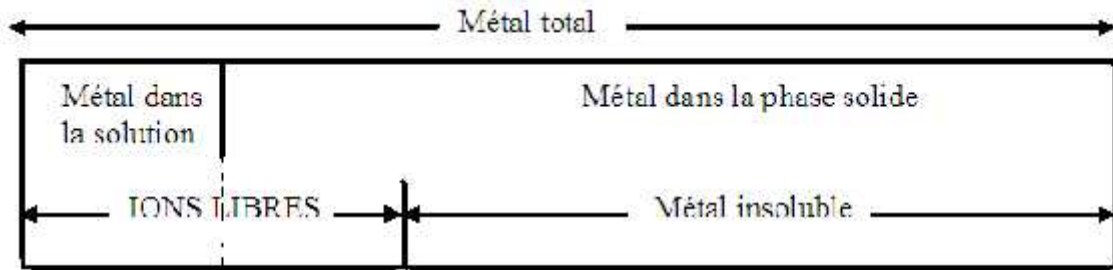
Différentes fractions	Localisation des éléments traces métalliques
Les argiles	On trouve une fraction importante des ETM du sol dans la phase argileuse : ils sont inclus dans les réseaux silicatés sous une forme très peu disponible, ou encore adsorbés à la périphérie des argiles.
Les carbonates de calcium	En sol calcaire, les carbonates de calcium sont les constituants majeurs qui interviennent dans la fixation des éléments-traces, soit par adsorption, par précipitation d'hydroxydes ou de carbonates, ou encore par insertion dans le réseau de CaCO_3 .
Les oxydes	Dans la majorité des sols, les oxydes de fer et de manganèse représentent la phase de rétention privilégiée de beaucoup de métaux.
La matière organique	Elle participe efficacement à la rétention des ETM qui peuvent être retenus sous forme échangeable (donc assez facilement mobilisable) ou à l'état de complexes dans lesquels ils sont plus énergiquement fixés.

I.5- Mobilité et biodisponibilité des ETM

La toxicité d'un métal dépend de sa spéciation (forme chimique) autant que des facteurs environnementaux (Babich et Stotzky, 1980). Dans le sol, les métaux lourds peuvent exister sous forme d'ions libres ou sous forme liée à des particules de sol. Cependant, un métal n'est toxique pour les organismes vivants que s'il est sous forme libre. Il est alors biodisponible. Comme tout élément chargé positivement, les cations métalliques peuvent interagir dans le sol avec toute particule organique ou minérale chargée négativement. De l'équilibre entre les formes libres et fixées de l'ion va dépendre sa biodisponibilité. On dit

alors qu'il est directement lié à sa toxicité. L'effet de la spéciation et de la mobilité des ETM sur leur disponibilité est illustré dans la figure I 1.

(a) Statut du métal



(b) Mobilité du métal



Figure I.1: Schéma illustrant l'effet de la spéciation de la mobilité des ETM sur leur disponibilité (**Shallari, 1997**).

Les phénomènes fondamentaux qui guident les processus de mobilité des éléments traces métalliques sont les conditions de pH, le potentiel d'oxydoréduction et l'interaction de ces ETM avec les ligands organiques et minéraux et les autres éléments métalliques présents dans le sol ou encore avec les micro-organismes du sol.

I.5.1- Le pH

Le pH est un facteur important influençant la solubilité et la spéciation du métal et donc sa toxicité (**Babich et Stotzky, 1977a et b**). Quand le pH diminue d'une unité, la concentration des cations métalliques libres augmente dans la solution du sol ce qui améliore la phytoextraction (**Christensen, 1984 ; Sanders, 1983 ; Sanders et al., 1986**). Les organismes et les microorganismes eux-mêmes peuvent influencer la disponibilité des métaux lourds dans leur environnement proche par acidification locale lors d'une réaction métabolique ou par la production de composés complexant les métaux lourds (**Gilleret al, 1998**).

I.5.2- Le potentiel redox (Eh)

Le potentiel redox (Eh) permet la caractérisation des échanges d'électrons entre les éléments chimiques, les faibles valeurs d'Eh favorisent la dissolution des hydroxydes et entraînent une augmentation de la concentration des métaux associés avec des composants (**Chaignon, 2001**). La modification du degré d'oxydation des ligands ou des éléments se liant avec le métal influence indirectement la solubilité des métaux lourds. Par exemple, en conditions réductrices, les sulfates sont réduits en sulfure qui piègent alors facilement les éléments métalliques tels le Pb, Cd, et le Zn (**Deneux-Mustinet al, 2003**). D'après ces auteurs, l'influence des conditions oxydo-réductrices du sol semble très importante pour la mobilité des éléments métalliques. Il n'en demeure pas moins que le facteur Eh apparaît souvent comme secondaire par rapport au pH. En effet, pour un sol donné l'Eh varie en fonction inverse du pH, il augmente quand le pH diminue.

I.5.3- L'activité biologique

La compréhension des phénomènes biologiques jouant sur la solubilité des métaux lourds dans les sols est rendue difficile par la multiplicité des actions et interactions à tous les niveaux. Les activités microbiennes peuvent causer la dissolution, la mobilisation et l'immobilisation des métaux dans les sols et les eaux. On peut diviser ces processus selon que la bactérie soit directement impliquée ou non. Les interactions indirectes causent un changement de l'environnement local, du pH ou du potentiel d'oxydo-réduction par exemple, ce qui peut provoquer un changement dans la spéciation des métaux. Les interactions directes, par contre, correspondent à l'action du microorganisme sur les ETM, par oxydation, réduction, accumulation ou adsorption grâce à la cellule elle-même ou grâce à des molécules membranaires ou capsulaires comme des exo polymères (**Chaignon, 2001 in Remon 2006**). Le développement de conditions anaérobies, par consommation de l'oxygène du milieu par l'activité microbienne, conduira à la mise en place de conditions favorables à la réduction bactérienne de Fe^{3+} en Fe^{2+} , et donc à la dissolution des oxydes ferriques et celle des cations métalliques adsorbés ou en substitution dans leur réseau cristallin. D'autres phénomènes, comme l'élévation du pH peuvent conduire : soit à la diminution (précipitation des cations sous forme de carbonates et hydroxydes, adsorption des cations sur les oxydes, adsorption des cations sur les substances humiques solides) soit

à l'augmentation (complexation par des ligands solubles, adsorption des anions) de la mobilité des éléments métalliques traces. Parmi les microorganismes on retrouve de nombreuses populations bactériennes et fongiques dont les activités métaboliques peuvent influencer plus ou moins la mobilité des métaux lourds. Cependant, beaucoup de ces phénomènes sont également communs aux plantes. Les principaux modes d'action de l'activité biologique du sol sur la mobilité des polluants métalliques sont la solubilisation, et l'insolubilisation.

- La solubilisation : elle provient de la production de composés acides tels que les acides carboxyliques, phénoliques, aliphatiques, nitrique et sulfurique. Certaines bactéries chimiolithotrophes (*Thiobacillus*, *Leptospirillum*, *Galionella*) oxydent les formes réduites du fer et du soufre contenues dans les sulfures et produisent de l'acide sulfurique, susceptible de dissoudre les silicates, les phosphates, les oxydes et les sulfures, libérant ainsi les métaux lourds. Les champignons et les racines des plantes excrètent eux aussi des acides afin d'augmenter leur absorption de nutriments, ou tout simplement comme déchets métaboliques (Foy *et al*, 1978 ; Chaignon, 2001 ; Deneux-Mustinet *al.*, 2003). D'autre part, plusieurs autres molécules organiques, capables de complexer spécifiquement certains éléments en solution, peuvent être également libérées en cas de carence nutritive. Parmi ces agents complexants, les sidérophores, composés organiques de faible masse moléculaire, produits par les bactéries et les champignons mais aussi par les plantes. Ces molécules favorisent les déplacements d'éléments métalliques et un transfert diffusif se fait jusqu'aux plantes dans lesquelles ils s'accumulent (Chaignon, 2001).
- L'insolubilisation : elle constitue le phénomène opposé. Bien que le phénomène de détoxification externe des métaux lourds par des exsudats racinaires n'ait jamais été démontré (Baker et Walker, 1990), certains acides organiques de faibles masses moléculaires, comme les acides oxaliques, citriques ou fumariques qui interviennent dans la complexation intracellulaire d'éléments nutritifs, peuvent être sécrétés dans le milieu extérieur. Ils limiteraient ainsi les transferts par des processus de complexation.

I.5.4- Mécanismes d'interactions des ETM avec les constituants du sol

Les processus les plus importants du devenir et de la mobilité des éléments traces métalliques dans les sols, sont les transferts de la phase solide vers la phase liquide et inversement. Plusieurs mécanismes physico-chimiques interviennent au cours de ces transferts : l'échange ionique, l'adsorption spécifique sur les phases minérales, la complexation avec la MO, la précipitation et la co-précipitation (Fig.I 2).

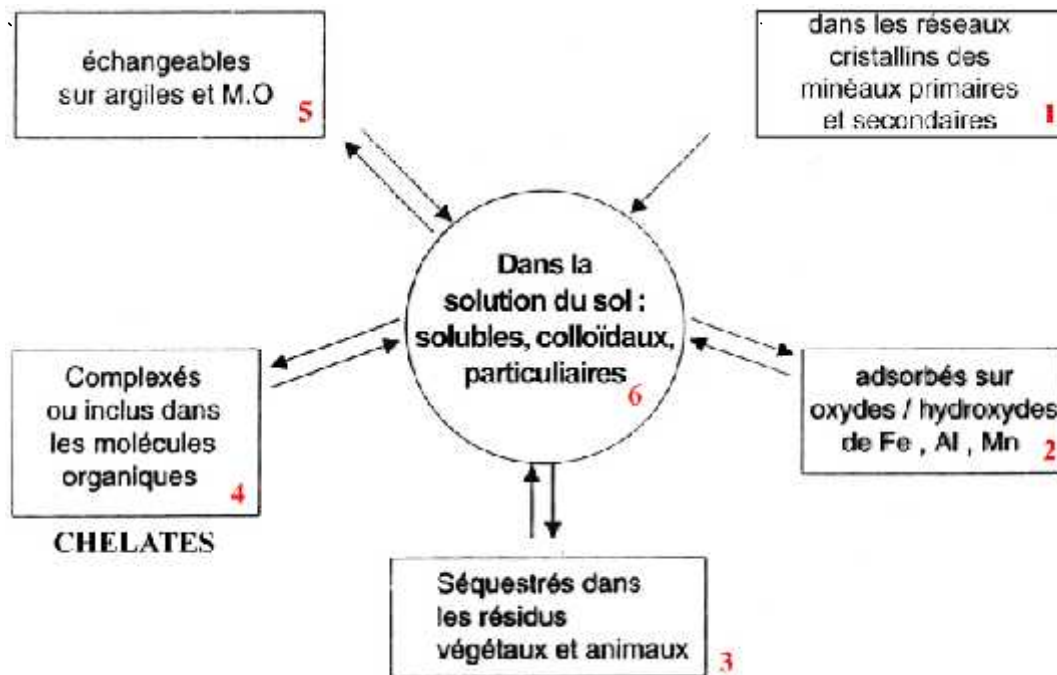


Fig I.2. Différentes formes et mécanismes de fixation des ETM dans le sol (Singh et Steinness, 1994).

Les éléments traces métalliques peuvent se trouver dans les six compartiments du sol présenté sur la figure I.2. Associés de diverses façons aux différents constituants du sol, ils peuvent être :

- Solubles ou sous forme colloïdale ou particulaire dans la solution du sol ;
- Echangeables sur les argiles et les matières organiques ;
- Inclus dans les réseaux cristallins des minéraux primaires (minéraux résultant de l'altération pédo génétique) ;
- Absorbés sur les phases hydroxylées de fer, de l'aluminium et du manganèse ;
- Séquestrés dans les résidus végétaux ou animaux complexés ou inclus dans les macromolécules organiques (Baize, 1997).

I.5.4.1-L'adsorption

L'adsorption est un phénomène de surface par lequel des molécules de gaz ou de liquides se fixent sur les surfaces solides. **Calvet 2003** définit trois catégories de constituants minéraux du sol présentant des propriétés d'adsorption:

- Minéraux cristallisés (argile, oxyde, hydroxydes) ;
- Minéraux amorphes (gels d'hydroxydes, d'aluminosilicates) ;
- Minéraux de recouvrement (oxydes et hydroxydes associés aux argiles).

Les argiles, de par leurs propriétés physico-chimiques, jouent un rôle très important dans la disponibilité des métaux lourds. Plusieurs auteurs (**Li et Li, 2000**) ont montré que les métaux lourds peuvent être absorbés et immobilisés par les minéraux argileux ou également être complexés par la matière organique du sol en formant alors un complexe organométallique (**Lamy, 2002**). En effet, la charge électronégative des argiles les rend aptes à contracter des liaisons électrostatiques avec toute entité chargée positivement, comme les cations métalliques. Ces liaisons sont réversibles et les cations fixés sont échangeables : ils peuvent être remplacés par d'autres cations présents dans la phase aqueuse du sol. Cette capacité d'échange de cations (CEC) est une caractéristique importante qui conditionne grandement la biodisponibilité d'un métal dans le sol. Le pouvoir adsorbant des argiles résulte de leurs caractéristiques de surface. Ces argiles présentent, comme l'humus, des propriétés colloïdales.

I.5.4.1.1- Adsorption non spécifique

Les cations en solution chargés positivement sont attirés par des forces électrostatiques de type Van der Waals, vers les charges négatives de la surface des particules du sol. La présence de charge à la surface du solide provient soit de substitutions isomorphiques dans le réseau cristallin soit de réactions chimiques de surface. Afin de maintenir l'électroneutralité, la charge négative de la surface des solides du sol est compensée par celle d'une quantité équivalente (sphère externe) de cations. La présence de ces contre-ions à la surface du solide forme une couche diffuse, qui avec la surface constituent la double couche électrique. Si le cation ne se lie pas par liaison covalente avec la surface, il forme, accompagné de sa sphère externe, une paire d'ion en solution (**Sigg et al. 1992**). Ce processus de complexation non-spécifique, appelé communément échange cationique, est

une réaction réversible contrôlée par la diffusion et l'affinité de l'ion pour l'adsorbant. Différentes particules du sol peuvent participer à ce type de complexation avec les métaux. Les particules argileuses par leurs charges permanentes peuvent retenir les cations métalliques par des forces électrostatiques. En l'absence de conditions qui pourraient favoriser l'hydrolyse des métaux (pH élevé), on observe un échange ionique entre les cations métalliques et les sites d'échange des charges permanentes (**Majone et al, 1996**). Les oxydes peuvent se complexer aux métaux tels que le Cu et le Pb à travers des réactions d'échanges d'ions ou co-précipités à la surface des oxydes, ou précipités comme des oxydes individuels (**Martinez et McBride, 1998**).

I.5.4.1.2- Adsorption spécifique

L'échange de cations métalliques et d'anions avec des ligands de surface pour former des liaisons partiellement covalentes, sans molécule d'eau interposée entre le groupe fonctionnel de surface et l'ion, aboutit à la formation de complexes de sphère interne. Le complexe de sphère interne fait intervenir des liaisons ioniques, covalentes ou une combinaison des deux, plus stables que la liaison électrostatique de sphère externe. Comme les liaisons covalentes dépendent de la configuration des électrons, des groupes de surface et de l'ion complexé, il est approprié de considérer la complexation de la sphère interne comme une adsorption spécifique (**Sposito, 1989**). Les ions mis en jeu sont généralement considérés comme des ions spécifiques. Cette adsorption spécifique aussi appelée chimisorption (**Yong et al, 1992**) est fortement dépendante du pH et est liée à l'hydrolyse des ions métalliques. La complexation spécifique des métaux par les oxydes de Fe et Al a été observée dans de nombreuses études (**Davis et Leckie, 1980; Benjamin et Leckie, 1981; Bruemmer et al, 1988**).

I.5.4.2- Complexation

Les ions métalliques peuvent être complexés à la MO du sol par association entre les cations métalliques et les groupes fonctionnels des substances humiques. Les groupes de surface de ces substances se comportent comme des ligands organiques complexant (**Evans, 1989**). Une réaction de complexation se produit quand un cation métallique réagit avec un anion ayant une fonction de ligand. Ces réactions sont liées aux :

- Groupements de surface basiques : $-NH_2$ (amine), $C=O$ (carbonyle), $-OH$ (alcool) et $-S-OR$ (thioéther) ;

- Groupements acides : -COOH (carboxyle), -OH (hydroxyle) et -SH (thiol).

D'après **Alloway, 1995**, les groupes carboxyles jouent un rôle prédominant dans les liaisons métal-acides humiques ou acides fulviques. La matière organique peut soit fixer les métaux traces et les immobiliser dans le sol au sein de complexes organo-minéraux stables soit, au contraire, migrer avec la solution du sol et induire un transfert de métaux traces qui lui sont associés au sein de l'écosystème, vers Les nappes phréatiques. Cette affinité est de grande importance dans le comportement des métaux toxiques. Par exemple la matière organique dissoute est capable d'augmenter leur solubilité. **Dunnivant et al., 1992b** ont montré que la migration du cadmium augmente avec la MOD (Matière Organique Dissoute). **Temminghoff et al., 1997** ont prouvé que les acides humiques dissous augmentent la mobilité du Cu dans un sol sableux contaminé Du fait de leur petite taille, de leur site de surface élevée et de leurs propriétés de charge, les colloïdes organiques du sol peuvent potentiellement avoir une affinité plus grande pour les métaux que les autres constituants du sol. Par conséquent, les espèces métalliques solubles présentes dans la solution du sol pourraient s'associer préférentiellement aux phases solides mobiles que sont les colloïdes (en particulier organiques) dans la solution plutôt qu'aux phases solides immobiles des constituants de la matrice du sol et donc augmenter la mobilité et le transport des métaux en profondeur. Les variations des conditions du milieu modifient la distribution des ETM entre les phases constitutives du sol. La mobilité des micro-éléments est définie comme leur aptitude à être transféré vers des compartiments où ils sont de moins en moins énergiquement retenus, le compartiment ultime étant représenté par la solution du sol (**Juste et al, 1995**). La connaissance du transfert des métaux lourds dans le sol nécessite la description des caractéristiques du sol et des réactions chimiques susceptibles de se dérouler dans la phase solide du sol (qui contient le complexe argilo-humique CAH)

➤ Le complexe argilo-humique

Plus la moitié parfois la totalité de la matière organique du sol est associée à l'argile avec laquelle elle forme des complexes très stables, les particules d'argiles se trouvent en générale enrobées par une pellicule. Des études dans ce domaine ont montré la complexité des réactions pouvant aboutir à la modification de l'adsorption des éléments métalliques par le complexe argilo-humique. Divers types de liaisons chimiques ou physico-chimiques assurent la cohésion de ces complexes, des hydroxydes polymérisées de fer, d'aluminium ou de manganèse qui sont eux chargés positivement. Ces complexes peuvent encore

renforcer la stabilité de l'ensemble en jouant le rôle de ponts entre les particules de charges négatives

I.5.4.3- Précipitation, co-précipitation

D'après (Sposito, 1989), la précipitation et la co-précipitation font partie des principaux mécanismes de rétention des ETM dans les sols. Elles correspondent au passage d'une espèce de l'état dissous à l'état solide. Les phénomènes de précipitation peuvent avoir lieu sur la surface des phases solides du sol ou dans la phase aqueuse du milieu (McBride, 1989). Les micropolluants métalliques peuvent précipiter dans les sols suivant les conditions qui y règnent, pour former des composés chimiques peu ou pas solubles, tels que des sulfures, des phosphates, des hydroxydes ou des sels organiques. La co-précipitation est définie comme la précipitation simultanée d'un agent chimique conjointement avec d'autres éléments (Alloway, 1995). Cela se produit quand par exemple les aluminosilicates précipitent et incorporent du zinc dans leurs structures pour remplacer l'aluminium. Le plomb, par exemple, peut précipiter dans les feldspaths (en se substituant au potassium), les oxydes de manganèse, et la matière organique naturelle (Sposito, 1989).

I.6 -Les ETM dans le sol en Algérie

En général, il est à noter que les origines des ETM en Algérie sont les mêmes par rapport à toutes les origines précédemment citées sauf qu'il existe une certaine différence en comparant les quantités avec celles des pays industrialisés. En Algérie d'après le Conseil National Economique et social (CNES), les données disponibles sur les quantités rejetées et les taux d'émission des ETM sont représentés sur les tableaux I.3 et I.4.

Tableau I.3 : Les quantités rejetées des différents déchets par an (CNES, 1997)

Origine des ETM	Quantité estimée (T/an)
Déchets industriels estimés (dangereux)	185
Origine minérale	55
Boues minérales	18
Boues chargées en Zn	25
Solvants organiques et résidus de peinture	4
Fabrication du plastique	25

Tableau I. 4 : Taux d'émission de quelques ETM en Algérie (mg/kg/an) (CNES, 1997)

ETM	Taux d'émission estimé (mg/kg/an)
Al	400
Zn	60
Pb	9
Cu	4
Cr	3
Cd	1

I.7- Particularités des métaux lourds (ETM)

I.7.1-Le zinc (Zn)

Dans le sol, le Zn est sous forme (II) : Zn^{2+} , $Zn SO_4$, $Zn HCO^{+3}$, $ZnCO_3$, $ZnFe_2O_4$, Zn_2SiO_4 , $Zn_3 (PO_4)_2$, et dans la solution du sol le Zn se trouve sous forme de Zn^{2+} ou plus souvent de complexe soluble avec les matières organiques (**Ross, 1995**). La proportion de Zn complexé dans la solution du sol augmente avec le pH. Le Zn échangeable diminue lorsque le pH augmente. Le Zn forme des complexes insolubles avec les matières organiques (**Tremel-Shaub et Feix, 2005**). La concentration minimale de Zn en solution est entre pH 7 et 8. La concentration en solution de Zn augmente fortement pour des pH <6 (**OFEFP, 1996**). Le facteur du sol important pour le transfert du Zn est le pH (**Chaignon, et Hinsinger, 2003**). Le Zn est fortement phyto-disponible, et se trouve en quantités plus élevées dans les racines que dans les parties aériennes (**Tremel-Shaub et Feix, 2005**). Le zinc (numéro atomique de 30 et poids atomique de 65,39), présente plusieurs propriétés intéressantes qui font de ce métal l'un des plus en demande pour diverses applications. Actuellement, le zinc est principalement utilisé pour les revêtements de protection des métaux contre la corrosion (galvanoplastie, métallisation, traitement par immersion). Il entre dans la composition de divers alliages (laiton, bronze, alliages légers). Il est utilisé dans la construction immobilière, les équipements pour l'automobile, les chemins de fer et

dans la fabrication de produits laminés ou formés. Il constitue un intermédiaire dans la fabrication d'autres composés de zinc et sert d'agent réducteur en chimie organique et de réactif en chimie analytique. Ces utilisations nombreuses de ce métal justifient l'inquiétude à l'égard d'une éventuelle contamination de l'environnement. Il est important de mentionner que le recyclage du zinc, qui s'effectue sans aucune perte de propriétés chimiques ou physiques, augmente d'année en année avec l'amélioration des procédés et qu'actuellement, environ 80% du zinc apte à être recyclé l'est effectivement. Cette progression de l'offre du zinc est encouragée entre autres par les débouchés potentiels et la forte croissance du secteur de la construction dans les pays industrialisés depuis les années 1970 (**Pichard, 2005**).

I.7.2- Le cadmium (Cd)

Dans le sol, le Cd est sous forme (II) : Cd^{2+} . La concentration de la solution du sol augmente fortement pour des sols acides (**OFEFP, 1996**). Il est alors sous forme Cd^{2+} ou de chélate d'acides fulviques (**Ross, 1995**). Très phyto-disponible, le Cd peut s'accumuler dans les racines ou les parties aériennes. La laitue, le chou et l'épinard sont des accumulateurs de Cd dans les parties consommées (**Tremel-Shaub et Feix, 2005**). Le Cd a une toxicité élevée pour l'homme et une forte phyto-disponibilité. Chez l'homme l'exposition chronique excessive au Cd peut entraîner une insuffisance rénale. Les apports anthropiques de Cd dans les sols sont importants par rapport aux autres éléments tracés, par l'industrie (essentiellement par voie atmosphérique), les engrais phosphatés et l'épandage de déchets. Le Cd est un élément non essentiel à l'organisme. Le Cd est un puissant agent mutagène. Il se concentre dans le tube digestif, le foie, les reins, le cœur, les poumons, et les os où il entraîne une décalcification. Comme le Pb, le Cd provoque des disfonctionnements graves du symptôme rénal ainsi que du système nerveux central chez le fœtus et l'enfant. (**Ben ghnaya, et al., 2009**).

I.7.3- Le chrome (Cr)

Il se trouve dans le sol sous forme (Cr VI) et (Cr III). Le Cr est majoritaire dans les sols, principalement sous forme de précipité insoluble d'Oxyde de chrome (**CCME, 1997**). Le (Cr VI) ($HCrO_4^-$, CrO_4^{2-}) provient essentiellement des pollutions anthropiques (**CCME,**

1997).Le Cr peut se combiner dans le sol avec d'autres éléments pour donner des composés organiques, il est peu phytodisponible, (Mei et al, 2002). Le (Cr III) a tendance à rester dans la racine des plantes, par contre le (Cr VI) est transporté vers les parties aériennes (Merian, 1991 cité par Tremel-Shaub et Feix, 2005). Le Cr est peu toxique pour les êtres vivants, en cas de carence, il peut produire des troubles neurologiques périphériques, un état diabétique ou perte du poids, (Bourrelrier et Berthelin, 1998).

I.7.4-Le fer (Fe)

Le fer est un élément chimique, de symbole Fe et de numéro atomique 26, c'est un oligo élément pour la plante mais en excès, il se comporte comme un métal lourd et devient toxique pour le végétal (Baize, 1997).Le fer intervient pour catalyser des oxydo-réductions grâce au changement de valence qui lui permet de passer réversiblement de l'état bivalent à l'état trivalent par la perte d'un électron .On trouve le fer dans des enzymes très importantes d'oxydo-réduction. Le fer intervient d'une manière essentielle dans la respiration, la synthèse de la chlorophylle, la photosynthèse, le métabolisme des protéines, la fixation de l'azote et la réduction des nitrates (Schneider ,1989).

Chapitre II : Techniques biologiques de dépollution des sols

Les nombreux cas de pollution par les métaux lourds génèrent autant de site contaminés qu'il faut réhabiliter. Les méthodes physico-chimiques de dépollution de ces sites utilisées *insitu* et *ex situ* présentent l'inconvénient d'être coûteuses et lourdes à mettre en œuvre (Gadd, 2000 ; Raskinet *al*, 1994 ;Salt *et al.*, 1995). De plus, elles perturbent fortement l'activité biologique des sols et altèrent leur structure physique. De nouvelles techniques économiquement compétitives existent et peuvent préserver les caractéristiques du sol (Kumar *et al.*, 1995; Shartz *et al.*,1999; Jiyeon *et al.*, 2012; Mudassar *et al.*,2014). Parmi tous les organismes dont l'action peut permettre de réduire ou d'éliminer une pollution, deux occupent une position privilégiée: les microorganismes et les plantes. Lorsqu'on utilise la capacité de certaines micro-organismes (essentiellement des bactéries) d'agir sur le composé polluant par absorption, accumulation, digestion, transformation, dégradation, évapotranspiration, etc., pour le rendre moins toxique, l'extraire, l'immobiliser ou le diluer considérablement, on parle de bioremédiation. Par contre lorsqu'on utilise la capacité de certaines plantes à tolérer ou même à accumuler des métaux lourds on parle de phytoremédiation.

II.1- La bioremédiation

II.1.1- Définition

La bioremédiation est littéralement « l'action de corriger un défaut, par exemple une pollution, à l'aide d'organismes vivants ». La bioremédiation est donc un ensemble de techniques qui utilisent les systèmes biologiques pour dépolluer l'air, l'eau et le sol : des organismes vivants sont utilisés pour absorber et/ou dégrader ou confiner une substance potentiellement toxique. La bioremédiation isole, identifie et caractérise les micro-organismes capables de réaliser ces réactions. En effet, de par leur diversité, les micro-organismes peuvent dégrader, modifier la structure ou délocaliser différents types de polluants (hydrocarbure, mercure, plomb, dioxines,...).

II.1.2-Principe

Le principe de la bioremédiation est basé sur l'utilisation des microorganismes, généralement des bactéries, pour réduire la pollution d'un site par identification biochimique des microorganismes susceptible de réaliser la transformation des polluants présents sur le site.

II.1.3-Les techniques de bioremédiation

On utilise les propriétés dépolluantes de microorganismes (des bactéries essentiellement, mais également des champignons) endogènes ou exogènes au terrain contaminé, ces

microorganismes peuvent être subdivisés en catégories selon le principe biologique ou mode de dépollution mis en œuvre. Ces catégories répertoriées sont présentées en détail dans le tableau ci-dessous :

Tableau II.1 : Les différents types des techniques de la bioremédiation (Dabouineau et al, 2005 ; Rosenberg, 1993)

Techniques	Principes	Polluants
Biodégradation	Utilisation de la capacité de certains microorganismes à transformer le polluant en substrat (sources de carbone et d'énergie)	Hydrocarbure Pétroliers, (HAP, solvants industriel).
Bio-immobilisation	Utilisation de la capacité de certains microorganismes à immobiliser un ou plusieurs composants à l'état soluble (bactéries)	Métaux et produits pétroliers
Biolixiviation	Solubilisation et entrainement dans la phase aqueuse par les microorganismes de polluants fixés ou piégés dans le sol	Minerais, métaux lourds (Cu, Cr, Fe, Zn, Co), phosphore
Traitement en bioréacteur	Création d'une boue épaisse en mettant la partie fine du sol dans l'eau et ajout de nutriments pour stimuler la croissance de la population microbienne .Un système d'aération est employée pour les procédés aérobies. En fin de traitement les phases solides et liquides sont séparées et le sol est remis en place.	Hydrocarbures, phénols, pétrole, HAP, composés organiques.
Biorestauration	Ajout de nutriments (azote/phosphore) pour stimuler la croissance des microorganismes indigènes et favoriser la dégradation des polluants	Pollution organique (hydrocarbure, pétroliers, HAP)
Bio stimulation	Réensemencement de population prélevée sur le site, dont la croissance a été stimulée en laboratoire ou en bioréacteurs installés sur site	Hydrocarbures, pétroliers, HAP)

II.2.-La phytoremédiation

II.2.1- Définition

« Phyto » = plante et « remedium » = rétablissement de l'équilibre, la phytoremédiation est définie comme l'utilisation de plantes pour extraire ou transformer les polluants organiques et/ou inorganiques (plus particulièrement les métaux lourds) (Salt et al., 1998). Les types

de stratégies de phytoremédiation, particulièrement utilisés dans la dépollution des métaux lourds sont décrits sur le tableau II.2

Tableau II.2 : Les types de phytoremédiation utilisés dans la dépollution des métaux lourds

Types	Définitions
Phytostimulation	Les plantes sécrètent des exsudats racinaires qui peuvent être utilisés par les communautés microbiennes et promouvoir leur développement et leurs activités. Cette stimulation microbienne dans la rhizosphère modifie la bioaccumulation, oxydation/réduction biologique et biométhylation des métaux lourds (McGrath, 1998).
Phytostabilisation	Utilisation des plantes pour réduire la biodisponibilité des polluants par les écoulements (latéraux ou en profondeur) ou immobiliser les composés polluants en les liants chimiquement par précipitation, stabilisation, absorption ou piégeage de ceux-ci par la plante. Cette technique permet d'éviter la dispersion des polluants dans les eaux de surface et souterraines (Cunningham et al., 1995).
Phytoextraction	Utilisation des plantes qui absorbent les métaux lourds dans les sols par les racines, puis transfèrent et accumulent ceux-ci dans leurs parties récoltables (feuilles, tiges et racines). Les métaux lourds vont se complexer avec des acides organiques ou des acides aminés synthétisés par la plante. Les métaux lourds sont ensuite récupérés en incinérant ou compostant la biomasse des plantes (McGrath, 1998).
Phytovolatilisation	Utilisation des plantes qui absorbent des contaminants organiques et autres produits toxiques, transformant ceux-ci en éléments volatiles peu ou pas toxiques et les relâchant dans l'atmosphère via leurs feuilles (McGrath, 1998).

II.2.2- Phytoextraction des sols contaminés par les métaux lourds

Parmi les différentes méthodes de phytoremédiation, la plus utilisée est la phytoextraction, appliquée particulièrement pour la dépollution des métaux lourds. La phytoextraction utilise des plantes capables de prélever les métaux lourds, de les transférer et de les accumuler dans les parties aériennes qui seront ensuite récoltées. Après la récolte par des méthodes traditionnelles agricoles, les tissus végétaux ayant concentré les métaux lourds seront traités par séchage, incinération ou compost. Cette technique représente une alternative ou un complément aux traitements physico-chimiques des sols contaminés par les métaux lourds (**Salt et al., 1998 ;Cooper et al., 1999**). La phytoextraction repose essentiellement sur les interactions entre les plantes, le compartiment du sol et la microflore tellurique. Le sol est une matrice complexe servant de support au développement des plantes et des micro-organismes. Dans le système plante-sol-microorganisme, les microorganismes ont souvent biodégradé en amont de l'absorption

racinaire. De plus, la plante (rhizosphère) et microorganismes ont co-évolué pour disposer d'une stratégie à bénéfices mutuels pour gérer la phytotoxicité de la plante, et donc améliorer la phytoextraction. Les microorganismes rhizosphériques profitent des exsudats racinaires tels que des acides aminés, des hormones, des enzymes alors que les plantes bénéficient de la capacité de dégradation des polluants en stimulant l'activité microbienne pour réduire le stress de phytotoxicité. Une meilleure connaissance de ces mécanismes est une clé essentielle pour réussir la phytoextraction. La phytoextraction induite avec ajout des chélateurs permet d'augmenter la mobilité et la biodisponibilité des métaux lourds, et la capacité d'extraction et de transport du métal dans les plantes (**Huang et al., 1997; Blaylock et al., 1997 ;Wei et al 2008, Mudassar et al ,2014**). Pour l'amélioration des rendements de phytoextraction, la plupart des études sur ce thème concernent la sélection de plantes hyper-accumulatrices (**Baker et Brooks, 1998 ;Wenzel, 2009**).

II.2.3- Intérêts de la phytoremédiation

L'intérêt économique de la phytoremédiation est une alternative à faible coût et un complément aux technologies de traitement intensives et coûteuses (**Anderson et al, 1993**). Elle coûte au moins 50% moins cher que les techniques classiques. L'intérêt technique de cette dernière et qu'elle permet l'extraction d'une gamme variée de polluants (**Kumar et al ., 1995 ; Rufus et al., 1997**).C'est une technique « passive » le soleil est le seul apport énergétique.

II.2.4 -Les limites de la phytormédiation

La phytoremédiation comporte néanmoins des limites, qui sont d'abord agronomiques : La lenteur du processus, liée au rythme de développement des plantes, le manque d'efficacité sur sols fortement pollués, et la limitation de la décontamination à la profondeur des racines des plantes (**Vranken, 2010**).

Chapitre III : Relation sol –micro-organismes

Ce chapitre traite l'effet du milieu sol sur les micro-organismes.

III.1 – Eau – sol – micro-organismes

L'eau dans le sol augmente la disponibilité des éléments solubles et facilite les déplacements des micro-organismes mobiles à la recherche de substrats ou de proies. Elle permet de meilleurs échanges gazeux avec l'atmosphère extérieure et un plus rapide renouvellement de l'oxygène. Les variations de la teneur en eau ont des répercussions considérables sur l'activité biologique du sol (**Rosenberg, 1993;Davet,1996, Gobat et al.,1998**).

III.1.1 – Effet de la dessiccation

Une forte dessiccation entraîne toujours la mort d'un grand nombre de micro-organismes. L'intensité du phénomène augmente avec la valeur du potentiel hydrique atteint, la durée de la période de sécheresse et de la température. Le taux de survie des micro-organismes dépend en grande partie de leur état physiologique .La fraction la plus jeune et la plus active de la biomasse, celle qui se trouvait en pleine phase exponentielle de croissance au moment de la déshydratation, est la plus vulnérable .La fraction parvenue à l'état stationnaire ou dormante est au contraire peu touchée (**Wood, 1992, Rosenberg, 1993;Van Gestel et al., 1993 in Davet, 1996**).

III.1.2 – Effet de la réhydratation

La réhumectation d'un sol entraîne une rapide reprise de l'activité microbienne qui, pendant quelques jours, est très supérieure à celle d'un échantillon du même sol conservé constamment humide. L'émission du CO₂ s'accroît considérablement, jusqu'à 40 fois le niveau initial, traduisant une intense minéralisation du carbone organique (**Orchard et Cook, 1983;Wood, 1992;Dommergues et Mangenot, 1970**). L'intensification de l'activité microbienne dans un sol séché puis réhumidifié est due à la consommation de matériaux qui n'étaient pas disponibles avant la phase de dessiccation : substrats libérés par la fragmentation des agrégats, molécules organiques résorbées, cellules microbiennes tuées par la sécheresse (**Dommergues et Mangenot,1970;Davet, 1996**).

III.2 – pH - sol - micro-organisme

Le pH est défini comme étant la concentration de la solution du sol en proton H^+ .

Il a une influence sur la composition microbienne du sol et sur certains aspects de l'activité des micro-organismes. Il joue un rôle dans les phénomènes d'adhésion aux particules d'argiles (**Dommergues et Manganot, 1970, Rosenberg, 1993; Gobat et al., 1998**)

III.2.1 – pH – équilibres microbiens

Il existe une relation entre le pH et les équilibres microbiens. Les champignons sont généralement prépondérants dans les sols à pH acide par contre les bactéries prédominent dans les sols neutres ou légèrement alcalins. Les études de croissance réalisées au laboratoire montrent que la majorité des champignons est en fait capable de prospérer dans une large gamme de pH, comprise en moyenne entre 3 et 8,5. Leur relative abondance dans les sols acides n'est due qu'à la difficulté pour la plupart des bactéries de se développer à des pH inférieurs à 6,5 (**Dommergues et Manganot, 1970; Wood, 1992, Rosenberg, 1993; Aciego Pietri et Brookes, 2008**).

III.2.2 – Effet du pH sur les charges superficielles des parois

Les parois microbiennes sont constituées de glycoprotéines dont la charge dépend du pH ambiant : elle est nulle lorsque la valeur du pH est égale à celle de leur point isoélectrique (PI), négative quand elle est supérieure au PI, positive quand elle est inférieure au PI. Pour les bactéries, le PI est très bas, généralement inférieur au pH moyen du sol. Il en résulte que les parois microbiennes sont le plus souvent chargées négativement, comme la surface des particules d'argile. Les valeurs du point isoélectrique des parois cellulaires varient selon la nature des cations présents dans le milieu. Elle peut être de l'ordre de 2,5 à 3,5 si ce sont des cations monovalents, ou s'élève à 5 en présence de $CrCl_3$ à la même force ionique, et approche la valeur de 7 avec $FeCl_3$ ou $AlCl_3$ (**Stotzky, 1980 ; Davet, 1996**). Dans la solution du sol, les ions les plus abondants sont K^+ , Na^+ , Ca^{++} et Mg^{++} , ce qui explique pourquoi les parois sont, en général, chargées négativement. Plus le pH du sol diminue et se rapproche du PI, plus faible est l'effet répulsif entre argiles et parois microbiennes. Au-dessous du PI, il pourra y avoir des liaisons stables par attraction directe entre bactéries ou conidies et particules argileuses (**Hattori et Hattorie, 1976; Rosenberg, 1993**). Des liaisons stables peuvent cependant s'établir aussi entre argiles et parois cellulaires chargées négativement par l'intermédiaire de ponts constitués par des cations di ou trivalents tels Ca^{++} ou Fe^{+++} .

III.3 – Argiles - sol - micro-organismes

Les argiles du sol ont un rôle régulateur très important pour la vie microbienne. Ce rôle est d'autant plus net que leur capacité d'échange est plus élevée. Leur surface développée plus grande et leur aptitude à gonfler en présence d'eau plus marquée explique qu'une argile comme la montmorillonite de type 2/1 (minéral argileux gonflant) ait une activité biologique supérieure à celle de la Kaolinite de type 1/1 (minéral argileux non gonflant) (**Dommergues et Mangenot, 1970; Wood, 1992 ;Davet 1996**).

III.3.1 – Effet des argiles sur les populations du sol

La biomasse d'un sol sableux enrichi en argile augmente significativement, ce qui se traduit par exemple par une activité respiratoire plus élevée. Cette augmentation porte à la fois sur les bactéries et sur les champignons mais concerne aussi bien les populations indigènes que des populations introduites expérimentalement (**Amir et Alabouvette, 1993**). Il est possible que l'argile stimule certains aspects du métabolisme, mais il est plus probable qu'elle augmente le taux de survie plutôt que le taux de multiplication (**Wood, 1992; Gobat et al., 1998**).

III.3.2 – Effet des argiles sur l'entraînement vertical

Les pluies et les irrigations vont entraîner les micro-organismes dans les horizons inférieurs du profil, dans le cas où il n'y aurait pas de mécanismes s'opposant à ce lessivage. Les bactéries ont de grandes capacités d'adhérence, y compris à des grains de quartz, et le lessivage demeure illimité même dans un sol sableux. L'entraînement en profondeur est toujours moins important quand on enrichit le sol en argile : on augmente ainsi les possibilités d'adhérence et l'on diminue le diamètre des pores du sol où les cellules sont retenues (**Huysman et Verstraete, 1993 ; Rosenberg, 1993 ; Davet 1996**).

III.4 – Température – sol

La température est le principal déterminant de la vitesse des réactions chimiques. Elle joue un rôle dans la fluidité des membranes et des sucs cellulaires. A haute température, les protéines sont dénaturées. La température du sol dépend de l'intensité du rayonnement solaire absorbé. Elle s'élève plus ou moins rapidement selon le degré d'humidité et la nature de la végétation qui couvre le terrain. L'amplitude des variations diurnes de la température, qui peut être considérable a été prise de la surface du sol, diminue rapidement quand la profondeur augmente. Mais les variations saisonnières sont perceptibles dans les horizons du profil (**Dommergues et Mangenot, 1970; Rosenberg, 1993; Davet 1996**).

III.4.1 – Effet direct de la température sur les microorganismes

Chaque organisme est caractérisé par un minimum et un maximum de température au-delà desquels son développement n'est plus possible. Entre ces limites, il existe une température optimale à laquelle, on note une croissance maximum. On observe donc une certaine distribution géographique des espèces déterminées par l'adéquation entre ces températures cardinales et le climat. Les micro-organismes sont capables de subsister bien au-delà de leurs températures extrêmes de croissance. Il existe cependant des limites, inférieures et supérieures, qu'ils ne peuvent pas dépasser : ce sont les températures létales. La plupart des bactéries sont généralement tuées vers 90°C, et les champignons 65°C ; mais ces chiffres ne représentent que des valeurs moyennes car les dégâts dus à la chaleur sont cumulatifs : ils dépendent à la fois de la température atteinte et de la durée d'exposition. Au-delà d'un certain seuil, variable selon les espèces, l'organisme ne peut plus récupérer (**Dommergues et Mangenot, 1970 ; Davet, 1996**).

III.4.2 – Effet de la température sur les équilibres microbiens

Les relations d'antagonisme, de compétition où d'entraide mutuelle qui s'établissent entre populations microbiennes et qui conditionnent leur équilibre dépendent étroitement de la température. Schématiquement, l'issue de la compétition entre deux espèces pour un substrat présent en quantité limitée, à une température donnée, dépend de leur vitesse relative de croissance à cette température. Une variation de quelques degrés peut complètement renverser l'équilibre des forces (**Dommergues et Mangenot, 1970; Davet, 1996**).

III.5 – Les composés xénobiotiques

Les pays industrialisés sont caractérisés par la fabrication et l'utilisation en quantités croissantes de composés organiques synthétiques qui, accidentellement ou volontairement, sont déversés dans le sol ou dans les cours d'eau. Ces produits, qui n'existent pas à l'état naturel, sont dits xénobiotiques. S'ils demeurent assez longtemps à la surface du sol, une partie peut être perdue par volatilisation ou par dégradation photochimique. Le reste est entraîné par les pluies ou les eaux d'irrigation. Mais ces molécules, qui sont en général de grande taille et portent des groupes chimiques fortement réactifs, ne sont pas facilement lessivées. Le sol se comporte vis-à-vis d'elles un peu comme une colonne de chromatographie et les retient plus ou moins absorbées sur le complexe argilo-hydrique (**Dommergues et Mangenot, 1970; Davet, 1996**).

III.5.1 – Effet dépressif maximum et temps de rétablissement

L'introduction d'un composé xénobiotique dans le sol peut avoir des conséquences écologiques importantes. Les effets sur les micro-organismes peuvent être appréciés soit par dénombrements de populations, soit par la mesure d'une activité particulière générale comme la respiration, ou plus ou moins spécialisé comme la nitrification ou la dégradation de la cellulose (Davet, 1996; Rosenberg, 1993).

III.5.2 – Effet des pesticides

Les pesticides représentent, de loin les composés xénobiotiques les plus systématiquement introduits dans l'environnement et les plus largement utilisés sur les cultures les plus variées herbicides, nématoïdes, insecticides et fongicides sont, soit directement enfouis dans le sol ou répandus à sa surface, soit pulvérisés sur le feuillage d'où une partie au moins retombe à terre immédiatement ou après une pluie. Plus une activité biologique est générale, moins elle paraît perturber. En effet, l'effacement de certaines espèces est rapidement compensé par le développement de celles qui ne sont pas sensibles au traitement, de sorte que l'effet global des pesticides sur des phénomènes tels que l'absorption d'O₂ ou le dégagement de CO₂ est très peu marqué (Boesten et Van Der Linden 1991 ; Davet, 1996; Taiwo et Oso, 1997).

III.5.3 – Effet des métaux lourds (ETM)

La présence d'ions métalliques en excès peut avoir un effet inhibiteur sur certaines catégories de micro-organisme (Wu et al, 2002 ; Xue-Feng Hu et al., 2014), spécialement dans les sols acides où leur solubilité est plus élevée. Ainsi, dans certains sols des îles Hawaï, la présence d'ion Al³⁺ peut inhiber fortement la germination des champignons (Ko et Hora, 1972 ; Kobayashi et Ko, 1985). Une élévation du pH permet d'atténuer le phénomène en insolubilisant une partie des ions toxiques qui précipitent sous forme d'hydroxydes. La toxicité des métaux lourds est particulièrement bien connue. Elle résulte en grande partie de leur affinité pour les groupements SH des enzymes, qu'ils inactivent après s'y être liés. Les conséquences sur la vie microbienne de la présence de métaux lourds dans le sol sont cependant encore un sujet de controverse (Davet, 1996; Ken Giller et al., 1998). Plusieurs travaux signalent des effets inhibiteurs graves vis-à-vis des champignons mycorhizogènes (Hepper et Smith, 1976, Burkhardt et al., 1993) par exemple où des Rhizobium .

Dans des sols contaminés par l'application, plusieurs années de suite, de boue d'épandage utilisée comme amendement organique, la diversité génétique ainsi que le spectre d'hôte et l'efficacité des populations de *R. Leguminosarum* sont considérablement réduits (**Hirsh et al, 1993**). Cependant du fait de la formation de complexes très stable entre les substances humiques et les métaux lourds, il est très difficile de savoir quelle est leur concentration « biologiquement active » dans le milieu.

On peut d'autre part constater que les micro-organismes et les bactéries notamment, font preuve de remarquables possibilités d'adaptation. La tolérance aux métaux lourds semble dans certains cas préexister à la pression de sélection. Elle pourrait être due à l'imperméabilité des capsules polysaccharidiques dont beaucoup de cellules bactériennes sont revêtues. La chélation des cations par des acides organiques (citrique, oxalique..) ou, à l'intérieur des cellules, par des protéines spécifiques, est un des autres mécanismes possibles. Des bactéries et des levures détoxifient les sels mercuriques en réduisant le cation métallique à l'état élémentaire : le mercure disparaît du milieu par évaporation (**Gad et Griffiths, 1978**).

CHAPITRE IV : Le transfert sol- plante des ETM

Les plantes sont exposées de deux façons aux éléments traces : par la partie aérienne et par les racines. Les éléments traces peuvent être déposés à la surface des feuilles et des racines (dans ce cas par un simple lavage à l'eau on enlève une partie) ou pénétrer dans la plante, soit par les parties aériennes (feuilles, tiges, fruits), à partir des particules en suspension dans l'air, de composés gazeux (notamment pour le Hg et le Se) ou de composés dissous dans l'eau de pluie ou d'irrigation ; soit par les racines à partir du sol.

IV.1.Pénétration des ETM par la partie aérienne

Les ETM entrent dans la composition des matériaux minéraux et organo-minéraux qui composent les fines poussières présentes dans l'air, lesquelles se déposent sur les feuilles, les tiges et les fruits. La contamination par voie aérienne est généralement faible, sauf lorsque les retombées atmosphériques sont importantes (**Tremel-Shaub et Feix, 2005, Girard et al , 2005**). Les voies de passages des ETM à travers les feuilles sont représentées par : les stomates quand il s'agit de substances hydrophiles, et les cuticules quand il s'agit des substances lipophiles (**Dahmane ., et al. 2005**).

IV.2.Prélèvement des ETM par les racines

La disponibilité des ETM est dépendante du temps, de la plante, de la biomasse et d'autres composantes du sol. Seule une petite fraction de la teneur total en cet élément dans le sol est disponible pour les racines des plantes. Cette fraction montre généralement une variabilité spatio-temporelle bien plus importante que la concentration en éléments traces. La phase liquide est essentielle pour que les ions puissent se déplacer vers la surface des racines. Quand on compare les concentrations en élément dans les plantes à celles dans la solution du sol, ces dernières sont plus basses de 1 à 3 ordres de grandeur (**Bargagli, 1998 in Tremel-Shaub et Feix, 2005**). Les mécanismes d'adsorption des éléments traces par les racines de plantes sont encore mal compris, mais il apparait que la plupart des prélèvements d'éléments traces par la plante impliquent seulement des espèces ioniques libres (**Bargagli, 1998 in Tremel-Shaub et Feix, 2005**).

IV.2.1. Mécanismes de prélèvement des ETM

IV.2.1.1. La phytodisponibilité

La phytodisponibilité d'un élément trace métallique peut être définie comme la quantité d'élément qui peut être transférée «prélevée» dans la plante durant son développement (**Bourelrier et Berthelin, 1998**). Elle est la résultante d'un ensemble de processus successifs qui contribuent au transfert de l'élément de la phase solide du sol à la solution du sol puis aux tissus de la plante : l'offre du sol, le transport vers les racines, et le prélèvement par les racines en lui-même. Les ETM se retrouvent sous deux formes dans le sol : soluble et solide. Les formes solides sont très majoritaires en quantité. Sur la phase solide, un élément peut être réparti en deux compartiments : celui des ions pouvant passer en solution et celui des éléments non mobilisables. Les formes solubles, bien que minoritaires, ont un rôle prépondérant, puisque les racines des plantes prélèvent les éléments traces uniquement dans la solution du sol (**Bourelrier et Berthelin, 1998**). Plus la concentration d'un élément (sous une forme chimique absorbable par la plante) est importante dans la solution du sol, plus la plante peut prélever cet élément. La répartition des ETM entre la phase solide et la phase liquide du sol change constamment. Il s'agit d'une suite d'équilibres chimiques du sol, entre autres par des organismes vivants. L'homme notamment peut exercer une influence sur ces équilibres, en chaulant, en épandant des matières organiques, en apportant des éléments sous forme soluble, en acidifiant les sols par les retombées atmosphériques des activités industrielles. La fourniture de l'élément à la solution du sol par la phase solide peut être qualifiée d'«offre» du sol (**Morel, et al., 1996; Bourelrier et Berthelin, 1998**). La probabilité pour qu'un ETM soit prélevé par une plante est fonction de la capacité de l'élément à recharger la solution du sol à partir de la phase solide. De même l'origine de l'élément est importante, car elle influe sur sa forme chimique (**Merian, 1991 cité par Tremel-Shaub et Feix, 2005**). Quand il s'agit d'un élément « naturel », il se trouve en majorité sous forme solide non assimilable par les plantes car très fortement fixée au sol. Au contraire, quand il s'agit d'un sel, que l'on a généralement apporté lors d'une expérimentation pour étudier le transfert, ou lors de fertilisation, ou bien par l'activité industrielle, une partie importante est très assimilable par les plantes. Plus le temps passe, et plus l'élément apporté par le sel se fixe dans le sol. Il devient de moins en moins assimilable.

Les ETM de la solution du sol sont transportés vers la rhizosphère, qui est la zone de sol proche de la racine, en interaction avec elle. Une fois dans la rhizosphère, ils sont prélevés par les racines. Presque tous les éléments absorbés par la racine sont sous forme minérale (**Barber, 1995 cité par Tremel-Shaub et Feix, 2005 , Tang et al., 1998 ;Fässler et al., 2010**). Une partie des éléments traces peut pénétrer réellement dans les cellules des racines par des voies plus ou moins spécifiques et plus ou moins régulées. Dans ce cas, il s'agit d'une réelle absorption, qui permet aux éléments traces de migrer dans la plante vers d'autres organes. La connaissance de la concentration totale d'un métal est insuffisante pour estimer les risques liés à sa présence dans l'environnement (**Lamy et al, 1999 cité par Uzu,2009 ; Audet et Charest,2007**). Ces risques seront, en effet aussi fonction de sa compartimentation, de sa spéciation, de la taille des phases porteuses, etc., car tous ces facteurs influencent en particulier fortement la capacité de transfert phase solide-solution d'un métal et donc sa réactivité. En résumé, les plantes assimilent une faible fraction des éléments traces totaux du sol : ceux qui sont dans la solution du sol, et ceux qui peuvent rapidement passer de la phase solide du sol à la solution du sol. C'est l'offre du sol, elle dépend des facteurs liés au sol (concentration naturelle, pH, Eh, CEC), au climat (température, humidité) et à la plante (influence des racines sur le sol, influence des micro-organismes). Pour une offre donnée du sol, chaque plante prélève plus ou moins d'éléments selon son espèce végétale, sa variété et son âge. Les concentrations sont généralement plus élevées dans les racines, puis dans les parties végétatives, et enfin dans les parties reproductrices. Les teneurs sont donc généralement plus importantes dans l'ordre décroissant : légumes- racines, puis légumes-feuilles, et enfin fruit et graines.

Chapitre V: Matériel et méthodes

Ce chapitre comporte deux sections, la section une traite la bioremediation, et la section deux traite la phytoremediation.

Section 1 : la bioremediation

Le but de cette partie de notre travail est de déterminer dans quelle mesure les micro-organismes du sol peuvent participer à la modification de la biodisponibilité d'un ETM, cas du Zn dans la solution du sol. Ce paramètre est très important car il conditionne le potentiel d'élimination du Zn par phytoextraction à l'aide d'une plante capable de tolérer de fortes concentrations du Zn. Il s'agit de mettre en relief le rôle des micro-organismes et du pH sur la concentration du Zn dans la solution du sol.

V.1-Matériel d'étude

V.1.1-Sol

Le prélèvement des échantillons du sol a été effectué dans une parcelle homogène. L'homogénéité de la parcelle a été vérifiée par (Lamari, 2003). On a utilisé le même sol pour l'étude de la phytoremediation en utilisant comme plante hyper accumulatrice le colza. Les résultats des caractéristiques du sol seront présentés dans le chapitre VI résultats et discussion.

V.1 .2- Matériel utilisés

Le matériel que nous avons utilisé est le suivant :

- Le pH mètre utilisé est un appareil de paillasse modèle HANNA instrument que nous avons étalonné à l'aide de solution tampon de pH 4, 7 et 10. Et cela avant chaque cycle d'utilisation (photo V.1).Cet appareil permet de mesurer en plus du pH, la température de la solution du sol.



Photo V.1 : pH mètre utilisé pour cette expérimentation.

- Agitateur mécanique, pour l'agitation des solutions nous avons utilisé un agitateur de type KS250 basic



Photo V. 2 : Dispositif utilisé pour l'agitation des solutions.

- Balance, la balance utilisée pour les pesées des échantillons du sol et des différents produits chimiques est une balance de précision de marque LAC114 (portée 110g, précision 0,1mg).
- Verrerie, les différentes verreries de laboratoire ont été utilisées pour la réalisation de nos manipulations (bêcher, fiole, tube à essais, Erlen Meyer).
- Produits utilisés, les produits utilisés sont résumés sur le tableau V.1

Le tableau V.1 Les différents produits chimiques utilisés :

Produit	Nomenclature	Fonction
ZnNO ₃	Nitrate de zinc	pour les concentrations de Zn
HNO ₃	Acide nitrique concentré	pour l'extraction du Zn
Solution nutritive : CaCl ₂ MgSO ₄ NaNO ₃	Dichlorure de Calcium Sulfate de magnésium Nitrate de sodium Extrait de levure Peptone	Pour la stimulation de l'activité des micro-organismes sur la mobilité du Zn

V.2-Méthodes d'études

V.2.1-Dosage du zinc

V.2.1.1-Dosage par spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA)

a-Principe de la spectrophotométrie d'absorption atomique

Cette analyse est pratiquée à l'aide d'un Spectrophotomètre d'Absorption Atomique S.A.A. Le S.A.A est basé sur la détection de très faibles niveaux de concentration de nombreux éléments grâce à l'utilisation des sources de rayonnement spécifiques pour chaque élément à mesurer, et ce, en comparaison avec des solutions de référence dont les concentrations sont connues. La méthode de SAA présente beaucoup d'avantages. Elle est spécifique, sélective et simple. Un inconvénient majeur de cette méthode, réside en la nécessité de changer de source pour chaque élément à doser. Ce qui augmente à la fois, le coût de l'analyse et le temps qu'elle nécessite.

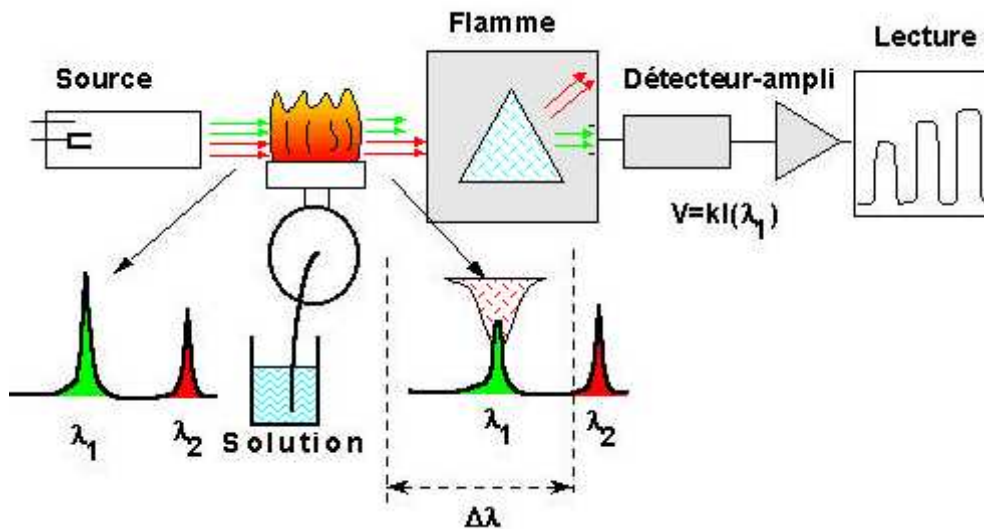


Figure V.1 : Schéma du spectrophotomètre d'absorption atomique.

b- Dosage proprement dit

Pour le dosage du Zn, nous avons utilisé la méthode de spectrophotométrie d'absorption atomique S.A.A. L'appareil utilisé est un spectrophotomètre de marque : SOLAAR 929. Le dosage des échantillons a été réalisé au Laboratoire de la police scientifique (Châteauneuf-Alger). La précision des résultats dépend de la précision du spectrophotomètre et de la précision des manipulations (volume des échantillons, volume de HNO₃, filtration des échantillons, acidification des échantillons par l'acide nitrique HNO₃).

V.3-Méthode d'analyse des caractéristiques du sol

Avant de procéder aux dosages du Zn (ETM considéré) dans la solution du sol, on a analysé le sol, en déterminant ses principales caractéristiques à savoir : pH, CEC, MO, CaCO₃ total, Texture (% A, % LF, % LG, %SF, %SG). On a déterminé la concentration initiale du sol en Zn. Pour les méthodes de la caractérisation du sol, le choix a été porté sur les méthodes d'analyse du sol selon le protocole de **Clément et Mathieu 2005** (tableau V.2). Le même protocole a été suivi pour l'étude de la dépollution d'un sol urbain.

Tableau V.2 : les méthodes d'analyse des caractéristiques du sol

Caractéristique du sol	Méthodes utilisées
Calcaire total (CaCO ₃) en %	Méthode volumétrique au calcimètre de Bernard
Conductivité électrique (CE) en dsm/m	Mesure de la conductivité électrique d'un mélange sol/ eau au 1/5
pH	Méthode électrométrique rapport sol/ eau 1/ 2,5
Carbone organique (C) en %	Méthode Anne
Matière organique (MO) en %	Teneur déduite de la méthode Anne à l'aide de la relation : $MO\% = C\% \times 1.72$
Azote total (N _t) en %	Méthode Kjeldhal
Phosphore échangeable (P) en mg/kg	Méthode Olsen
Potassium échangeable (K) en mg/kg	Extraction à l'acétate d'ammonium, filtration, dosage au spectrophotomètre de flamme.
Capacité d'échange cationique (CEC) en Cmol/kg de sol	Méthode de percolation à l'acétate d'ammonium. et mesure de la teneur du Ca ⁺² , K ⁺ , Na ⁺² par photomètres de flamme
Azote échangeable (N) en mg/kg	Extraction au KCl et dosage par titrage à l'acide sulfurique
Texture	Méthode internationale à la pipette de Robinson
Zn dans le sol en mg/kg	Extraction à l'acide nitrique et dosage au SAA.

V.4-Préparation des échantillons du sol pour l'étude expérimentale

Des échantillons de 10g de sol ont été pesés avec une balance de précision, et chaque échantillon de sol a été mis en suspension dans un Erlen Meyer de 500ml, contenant 250ml d'une solution de zinc à 450mg/kg enrichie et non enrichie d'éléments nutritifs.

Le choix de la concentration de 450mg/kg pour notre expérimentation est justifié par le fait qu'à partir de 300mg/kg le sol est considéré comme pollué en Zn selon les normes AFNOR européenne de l'arrêté de 08.01.1998 (annexe .1)

Le milieu nutritif utilisé a été choisi pour son faible pouvoir complexant des métaux (**Chanmugathas et Bollag, 1987**). Il est composé des éléments suivants :

- 0,1g /l Peptone ;

- 0,1g /l Extrait de levure ;
- 0,5g/l Sulfate de magnésium ;
- 0,5g/l Chlorure de calcium ;
- 0,5g/l Nitrate de sodium.

Le milieu nutritif a été ajusté à pH 6.8 et stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 20mn. L'effet des micro-organismes du sol sur la mobilité du zinc a été évalué sur deux milieux différents :

- dans de l'eau distillée additionnée de nitrate de zinc à raison de 0,088 g ce qui correspond à 450mg/kg (annexe.2).
- dans un mélange à volume égal d'eau et de solution nutritive additionné de zinc. Ces essais ont été réalisés à raison de trois répétitions en prévoyant des témoins ne renfermant pas de zinc pour chacun des deux milieux.

V.5-Conduite de l'étude expérimentale

Les essais ont été placés sous agitation, et 10 ml de la solution du sol ont été prélevés à des intervalles de temps réguliers de façon à mesurer le pH et la concentration du zinc. Pendant la première semaine d'expérimentation, ces mesures ont été effectuées quotidiennement puis espacées de façon hebdomadaire (1 fois par semaine) pendant neuf semaines (64 jours).

Pour déterminer la concentration totale en zinc, les échantillons prélevés de 10 ml sont filtrés, puis acidifiés avec 2,5ml d'acide nitrique HNO₃ concentré. La concentration en zinc de la solution est ensuite déterminée par Spectrophotométrie d'Absorption Atomique en utilisant une lampe spécifique à cet élément.



Photo. V 3: Vue générale des solutions du sol de notre expérimentation.

Section 2: la phytoremediation

Le but de cette partie de notre travail consiste à étudier la capacité de certaines plantes à extraire des métaux lourds du sol. En premier lieu, on a étudié l'effet de doses croissantes du zinc sur les paramètres morphologiques du colza. En second, on a étudié la dépollution d'un sol urbain en utilisant deux plantes le gazon et la tomate industrielle. Le protocole utilisé est le suivant:

Etude de l'effet des doses croissantes du zinc sur les paramètres morphologiques du colza

L'étude de l'effet des doses croissantes du zinc sur le colza a porté sur un essai mené en pots de végétations de 250 g. Cet essai a été effectué sous serres au niveau de la station expérimentale de l'Ecole National Supérieure Agronomique d'EL Harrach (ENSA).

V.6-Matériels d'études

- Substrat: L'expérimentation a nécessité l'utilisation des pots en plastiques, de diamètre (9cm) et de hauteur (9cm), d'une capacité de 250g contenant un sol

provenant de la station expérimentale de l'ENSA prélevé au niveau de l'horizon de surface à une profondeur de 0-30 cm à l'aide d'une tarière. Le sol a été mélangé avec du terreau (1/3Terreau, 2/3sol).

- Matériel végétal: L'espèce végétale utilisée est: le colza (*Brassica napus.L*). Le PMG (Poids de Mille Graines) =4.68g et la faculté germinative est de 60%. Le colza est une plante herbacée annuelle appartenant à la famille des Brassicacées qui comprend plusieurs espèces accumulatrices (**Purakayastha et al., 2008**)
- Produit utilisé : Les traitements effectués sur le colza sont des concentrations croissantes du zinc, pour cela on a utilisé le Sulfate du zinc Heptahydraté ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$).
- Les solutions de traitements : Les doses du zinc (mg/kg) utilisées au cours de notre expérimentation ainsi que leurs correspondances en mg du Zn/250g du sol, sont représentées sur le **tableau V-3**.

Tableau V-3 : Concentrations du zinc appliquées.

Echantillon	Concentrations en mg/kg
Zn ₀	0
Zn ₁	300
Zn ₂	350
Zn ₃	400
Zn ₄	450
Zn ₅	500

La quantité de produit $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ utilisée pour chaque concentration du zinc est indiquée dans le **tableau V-4**

Tableau V-4 : quantités en mg de produit $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ utilisées par pot de chaque concentration du zinc.

Concentration	Quantité en mg du produit $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ utilisée pour un pot de chaque concentration du Zn
Zn ₀	0
Zn ₁	331
Zn ₂	387
Zn ₃	442
Zn ₄	497
Zn ₅	552

- La balance de précision : Afin d'effectuer les pesées du produit $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, ainsi que la mesure de la masse végétative fraîche et la masse végétative sèche, on a utilisé une balance de précision de la marque: LAC 114 (110g /0.1mg).
- L'étuve : L'étuve utilisée pour le séchage de la masse végétale est de marque : Fisher Bioblock Scientifique Venticell.

V.7-Méthodologie du travail

V.7.1-Préparation des solutions de traitements

Après avoir calculé la quantité de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ nécessaire pour un pot de chaque concentration du zinc, et afin d'éviter des éventuelles difficultés rencontrés lors d'une déperdition de solution. On a pris une marge de sécurité en multipliant les valeurs obtenues par 13 au lieu de 12 qui est le nombre de pots pour chaque concentration du Zn. Ces quantités sont mentionnées dans le tableau V-5.

Tableau V-5 : Quantités en mg de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ utilisés pour les 13 pots de chaque concentration du zinc.

Concentration	Quantités en g de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ utilisées pour les 13 pots de chaque concentration.
Zn ₀	0
Zn ₁	4.303
Zn ₂	5.031
Zn ₃	5.746
Zn ₄	6.461
Zn ₅	7.176

Par la suite on fait dissoudre chacune des quantités ci-dessus dans 1768 ml de l'eau distillée, cela est en fonction de la capacité de rétention du sol (pour assurer la concentration voulue, on a saturé chaque pot par le double de la capacité de rétention qui est de 68ml, et donc l'irrigation de 13 pots nécessite une solution d'un volume de 1768ml); on aura donc, 5 solutions mères à des concentrations différentes de zinc qui seront partagées en solutions filles d'un volume de 136ml.

V.7.2-Protocole expérimental

V.7.2.1-Test de germination

Le but de ce test est de connaître la faculté de germination des graines. On prélève 10 graines saines prises des différents points du sac de semences que l'on met dans une boîte de Pétri dont le fond est préalablement recouvert d'une couche de coton. Les graines sont ensuite recouvertes d'une fine couche de coton et le tout est humidifié à l'eau distillée sans excès. Au bout d'une semaine, on compte le nombre de graines germées (N). La faculté germinative FG exprimée en % est donnée par :

$$FG = 100 \times N / 10.$$

V.7.2.2-La serre

L'expérimentation a été réalisée dans une serre en plastique, disposant d'un thermomètre pour contrôler la température, sachant que la régulation de température se fait par l'ouverture des portes. On a enregistré des températures allant de 23°C à 48°C durant toute la durée de l'expérimentation, vers la fin de l'expérimentation on était contraint de faire sortir les pots à l'extérieur car une température de 48°C est néfaste pour le colza.

V.7.2.3-Semis

Le semis a été effectué le 05/04/2010 ; après 24h de saturation des pots avec les solutions de zinc pour obtenir les concentrations à étudier.

V.7.2.4 -Conduite de l'expérimentation

- Mettre 250g de terre dans chaque pot. (Mélange 1/3Terreau, 2/3sol) ;
- traiter avec la solution de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ à différentes concentrations du zinc soit : 300mg/kg, 350mg/kg, 400mg/kg, 450mg/kg, 500mg/kg ;
- laisser reposer 24h ;
- déposer les graines selon une densité de semis de 25graines/pot, à une profondeur de 1cm, puis recouvrir d'une fine couche de terre ;
- disposer sous serre selon un dispositif en bloc aléatoire (Figure V.2).

L'expérimentation a duré 3 mois, le choix du dispositif a porté sur un dispositif en bloc aléatoire complet à : 6 doses de zinc, avec 5 blocs soit 30 traitements, avec 2 répétitions, ce qui fait en total 60 pots, plus 12 pots sans semis. Les paramètres étudiés sont :

- La hauteur des tiges: Ce paramètre a été mesuré en cm, après chaque prélèvement ;
- La Longueur des racines: Ce paramètre a été mesuré en cm sur papier millimétré, après chaque prélèvement;
- Le nombre des feuilles: Après chaque prélèvement, on a calculé le nombre total des feuilles présent dans chaque pot;
- Le rendement: Après chaque prélèvement, on a pesé la masse végétative fraîche de chaque pot, puis on a séché le végétal à l'étuve à 80°C pendant 24h, et enfin on a pesé jusqu' à l'obtention d'un poids fixe et ce pour avoir le rendement en matière sèche/pot.

N

Zn ₀ S R ₁	Zn ₁ S R ₁	Zn ₂ S R ₁	Zn ₃ S R ₁	Zn ₄ S R ₁	Zn ₅ S R ₁	Zn ₀ S R ₂	Zn ₁ S R ₂	Zn ₂ S R ₂	Zn ₃ S R ₂	Zn ₄ S R ₂	Zn ₅ S R ₂
Zn ₀ P 5 R ₁	Zn ₁ P 5 R ₁	Zn ₂ P 5 R ₁	Zn ₃ P 5 R ₁	Zn ₄ P 5 R ₁	Zn ₅ P 5 R ₁	Zn ₀ P 5 R ₂	Zn ₁ P 5 R ₂	Zn ₂ P 5 R ₂	Zn ₃ P 5 R ₂	Zn ₄ P 5 R ₂	Zn ₅ P 5 R ₂
Zn ₀ P 4 R ₁	Zn ₁ P 4 R ₁	Zn ₂ P 4 R ₁	Zn ₃ P 4 R ₁	Zn ₄ P 4 R ₁	Zn ₅ P 4 R ₁	Zn ₀ P 4 R ₂	Zn ₁ P 4 R ₂	Zn ₂ P 4 R ₂	Zn ₃ P 4 R ₂	Zn ₄ P 4 R ₂	Zn ₅ P 4 R ₂
Zn ₀ P 3 R ₁	Zn ₁ P 3 R ₁	Zn ₂ P 3 R ₁	Zn ₃ P 3 R ₁	Zn ₄ P 3 R ₁	Zn ₅ P 3 R ₁	Zn ₀ P 3 R ₂	Zn ₁ P 3 R ₂	Zn ₂ P 3 R ₂	Zn ₃ P 3 R ₂	Zn ₄ P 3 R ₂	Zn ₅ P 3 R ₂
Zn ₀ P 2 R ₁	Zn ₁ P 2 R ₁	Zn ₂ P 2 R ₁	Zn ₃ P 2 R ₁	Zn ₄ P 3 R ₁	Zn ₅ P 2 R ₁	Zn ₀ P 2 R ₂	Zn ₁ P 2 R ₂	Zn ₂ P 2 R ₂	Zn ₃ P 2 R ₂	Zn ₄ P 2 R ₂	Zn ₅ P 2 R ₂
Zn ₀ P 1 R ₁	Zn ₁ P 1 R ₁	Zn ₂ P 1 R ₁	Zn ₃ P 1 R ₁	Zn ₄ P 1 R ₁	Zn ₅ P 1 R ₁	Zn ₀ P 1 R ₂	Zn ₁ P 1 R ₂	Zn ₂ P 1 R ₂	Zn ₃ P 1 R ₂	Zn ₄ P 1 R ₂	Zn ₅ P 1 R ₂

Concentrations du zinc : Zn₀, Zn₁, Zn₂, Zn₃, Zn₄, Zn₅ ; plante colza : P ; Pots sans semis : S ; Répétitions : R₁, R₂.

Figure .V 2 : Schéma du dispositif expérimental en bloc aléatoire.

Dépollution d'un sol urbain contaminé par les métaux lourds

Le semis des plantes a eu lieu le 23/01/2011 et la récolte le 23/03/2011. Cette étude expérimentale consiste à décontaminer un sol pollué par les métaux lourds issu d'une zone urbaine (région de Beni Messous à Alger). L'essai s'est déroulé en vase de végétation.

V.8-Matériels

V.8.1-Milieu physique

L'étude expérimentale a eu lieu au niveau du laboratoire du département « Génie rural » à l'Ecole National Supérieure Agronomique d'Alger (ENSA) et au laboratoire de recherche des Biotechnologies Environnementales et du Génie des procédés Biogep sis à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger (ENP).

V.8.2-Sol

L'échantillonnage du sol a été effectué au mois de Décembre 2010. Lors de cette étude, nous avons utilisé deux types de sol ; un pollué, prélevé au niveau de la zone urbaine située à Beni Messous. C'est un sol urbain, ayant subi la pollution issue de deux sources différentes : le trafic routier et une ancienne usine de fabrication de citernes. Le deuxième sol « témoin » échantillonné au niveau de la commune de Staouali. Ce dernier est loin de toute source de pollution. Le sol témoin est de texture argilo-sableuse et le sol urbain est de texture sablo-limoneuse. Ils sont pauvres en matière organique, et leurs pH sont, respectivement alcalin à légèrement alcalin, les résultats des caractéristiques du sol de Beni Messous et de Staouali sont représentés sur les tableaux (annexe. 3).

V.8.3-Végétal

Pour effectuer ce travail nous avons choisi deux plantes: le gazon. (*Stenotaphrum americanum*), et la tomate industrielle (*Lycopersicum esculentum*). Actuellement, environ 400 espèces hyper accumulatrices ont été répertoriées (**Baker et al, 1990**), la tomate industrielle n'est pas répertorié dans la liste des plantes hyper accumulatrices. Les vases de végétations utilisés sont de capacité de 2Kg.

V.9-Méthodes

V.9.1-Conduite de l'expérimentation

Ces vases de végétations ont été remplis par une mince couche du gravier (pour faciliter le drainage), ensuite on a rajouté du sol. Cette étape a été faite au laboratoire du génie rural ENSA, l'expérimentation a duré 2mois.

V.9.2-Préparation de la verrerie

- Lavage des tubes et des fioles jaugées à l'eau + ISIS ;
- Rinçage à l'eau distillée ;
- Relaver la verrerie avec de l'acide nitrique HNO_3 à 10% ;
- Rinçage avec de l'eau distillée.

V.9.3-Préparation des échantillons du sol

Le sol est séché à l'air libre et tamisé à 2mm.

V.9.4-Extraction chimique des métaux lourds dans le sol et le végétal

Spéciation des métaux lourds

- **Spéciation chimique** : c'est la distribution d'un élément selon différentes catégories d'espèces chimiques dans un système ;
 - **Fractionnement** : c'est la classification d'un élément ou d'un groupe analysé par rapport à ses propriétés physiques et/ou chimiques (grosseur de particules, solubilité, force de liaison, etc) ;
 - **Partition** : répartition d'un composé dans les différentes phases d'un système (solide, liquide, atmosphère, matière organique, etc) selon des coefficients de partition spécifiques.

On peut définir une extraction comme étant la mise en solution aqueuse d'une fraction d'un ou de plusieurs éléments présents dans la phase solide du sol (**Tremel - Schaub et Feix, 2005**).

V.9.5-Méthodes d'extraction

Il existe plusieurs méthodes d'extraction, on cite :

- **L'extraction sélective** : ne concerne que les éléments phytodisponibles, peut se faire par deux mécanismes (simultanément ou seuls) - échange ionique et complexation (chélation) (Sterckeman, 2004 ;Bradl *et al.*, 2005).

Les extractants utilisés sont :

- L'eau distillée ;
- Acide dilué ;
- Complexant organiques (Acide Ethylène DiaménoTétra acétique ; EDTA, et l'Acide Ethylène Triamine penta acétique ; DTPA) ;
- Les solutions salines non tamponnées (NH_4NO_3 , CaCl_2 , NaNO_3).

La quantité extraite n'est pas totale mais proportionnelle, elle varie avec la capacité d'échange de l'ion du réactif (exemple : Ca^{2+} est plus échangeable que le Na^+). On doit diluer les solutions à des concentrations élevées car l'extraction sera plus facile. Le choix du réactif est lié principalement aux caractérisations du sol (humidité, pH,...) et encore aux éléments eux même (origines, forme dans le sol...). L'extractibilité est la faculté d'un élément à passer en solution. Elle est fonction de la solution d'extraction et des conditions opératoires (concentration, température, durée et mode d'agitation...). Elle dépend aussi de la matrice étudiée, et encore de l'état de l'élément dans le sol. (Tremel - Schaub et Feix, 2005 ;Bradl *et al.*, 2005).

Elément phytodisponible : c'est un métal ou élément trace représenté sous une forme dans la quelle cet élément sera facilement prélevé par la plante.

Tableau V-6: Méthodes d'extraction des éléments-traces du sol normalisées ou proposées à la normalisation en Europe.

PAYS	Méthodes	Objectifs	Références
Allemagne	NH ₄ NO ₃ (1mol./ L)	Elément traces mobiles	DIN (1993)
France	Na ₂ -EDTA (0,01mol/L) + CH ₃ COONH ₄ (1mol/L) à pH7 -DTPA (0.005mol/L) + TEA (0.1 mol /L) + CaCl ₂ (0,01mol /L à pH7,3	Teneurs assimilables en Cu, Zn, et Mn (fertilisation)	AFNOR (1994) : NFX31-120 -AFNOR (1994) : NFX31-121
Italie	-EDTA (0.02mol /L) + CH ₃ COONH ₄ (0 .5mol /L) à pH 4.65 - DTPA (0 ,005mol/L) + TEA (0,1mol /L) + CaCl ₂ (0,01mol/L) à pH 7,3	Biodisponibilité de Cu, Zn, Fe et Mn pour les sols à ph acide -Biodisponibilité de Cu, Zn Fe et Mn pour des sols ph neutre et basique	Unichim (1991)
Pays –bas	CaCl ₂ (0,01mol/L)	Biodisponibilité et mobilité des métaux lourds des sols pollués	Houba et al. (1990)
Suisse	NaNO ₃ (0,1mol/L)	Teneur soluble en Cu, Zn, Cd, Pb, et Ni et risques d'écotoxicité	vsBo (1986)
Royaume –uni	EDTA (0,05mol/L) à pH 4	Biodisponibilité du Cu	MAFF (1981)

- **L'extraction séquentielle** : le premier protocole, mis au point par (Tessier et al., 1979), été destiné à l'étude des sédiments. Son application a été élargie par la suite aux sols. Le protocole propose de faire l'extraction en 5 étapes pour distinguer l'élément se trouvant sous les formes dites : échangeables, liée aux carbonates, liée aux oxydes, liée à la matière organique et à la fraction résiduelle. Le BCR (Bureau communautaire de référence) a lancé un programme pour harmoniser les protocoles d'extractions séquentielles. Les résultats de ce programme ont été publiés par URE et al. (1992) dans l'Euro rapport (URE et al., 1993), ils définissent le fractionnement en quatre étapes :

1. **Acido-solubles** : correspond à la fraction échangeable et liée aux carbonates, elle se divise en deux familles ;

- La première famille regroupe les ions fixés par une liaison non spécifique et échangeable ioniquement sur la surface du solide, qui peut être remplacée par des cations.
- La seconde représente les cations des métaux précipités et co-précipités en carbonates.

Tessier et al., 1979 indiquent que les réactifs utilisés pour déterminer la fraction échangeable sont le chlorure de magnésium ou de calcium. **Shuman, 1985** a proposé de remplacer le chlorure par les Nitrates, qui n'ont pas le pouvoir complexant avec les métaux. Les réactifs utilisés pour déterminer la fraction liée aux carbonates sont l'acide acétique et/ou l'acétate à pH=5, la solution acide permet de dissoudre les carbonates, le pouvoir complexant de l'acétate empêche la ré-adsorption et la reprécipitation des ions libérés (**Tessier et al., 1979 ; Száková, 1999**)

2. **Réductible** : liée aux oxydes, (principalement liée au fer, à l'aluminium ou au manganèse). Tous les auteurs utilisent le protocole donné par **Tessier et al., (1979)**.
 3. **Oxydable** : liée à la matière organique, la méthode employée est l'oxydation de l'aliquote du sol à l'aide de l'eau oxygénée à 8,8M à chaud, pour détruire la matière organique et libérer les métaux fixés.
 4. **Résiduelle** : elle est déterminée par une digestion aux acides forts. Différents auteurs (**Quevauviller et al., 1997 ; Belzile et al., 1989**), déterminent cette fraction par la différence entre la quantité totale de métal et la somme des quantités extraites dans chaque fraction. Mais chaque solution d'extraction est susceptible d'agir sur plusieurs fractions géochimiques du sol (**Khebohian et Bauer, 1987**). C'est une des causes permettant à cette méthode de rester la seule approche chimique relativement simple de caractérisation des différentes formes d'un métal dans un sol ou sédiment.
- **Extraction simple** : utilisée dans les sciences du sol en vue de prédire la phytodisponibilité des ETM (principalement : Cu, Zn, Fe, Ni, Pb,...). Il est nécessaire de comparer les teneurs extraites chimiquement du sol à celles que renferment les végétaux et de rechercher les corrélations sol – plantes. Les extractants utilisés peuvent varier des acides très forts, tels que l'acide nitrique ou l'acide chlorhydrique, à des solutions salines comme chlorure de calcium (**Lebourg et al, 1996**).

Méthode d'extraction exhaustive : La méthode de mise en solution totale par attaque acide dans un milieu ouvert ou fermé et à chaud 105 C° est recommandée pour l'analyse des métaux lourds (**Maiz et al., 1997**) : les acides utilisés sont l'acide nitrique, l'acide chlorhydrique, et un mélange d'acide perchlorique et d'acide fluorhydrique. On peut conclure selon **Tremel - Schaub et Feix, (2005)**, qu'il n'existe pas de méthode d'extraction chimique universelle permettant d'évaluer simultanément et sans difficulté analytique l'absorption de tout élément trace.

V.9.6-Analyses des différentes formes d'ETM

Dans cette partie d'expérimentation, on a utilisé une méthode normalisée par (**AFNOR, 1994**), qui consiste à extraire ces différentes formes (spéciation) :

- Forme soluble par une solution mixte d'acétate d'ammoniac et l'EDTA (acide éthylène diaméno tétra acétique) ;
- Forme échangeable par l'acide acétique (CH₃COOH).

On a étudié ces 2 formes car elles sont phytodisponibles .Elles peuvent être prélevées par la plante, cette dernière utilise préférentiellement la forme soluble. Pour effectuer l'extraction de ces formes, on a choisi 2 méthodes : méthode quantitative et séquentielle (**Tack et Verloo ,1995**).

V.9.6.1-Analyse de la forme soluble des ETM (Cr et Zn) Méthode quantitative

L'extraction des formes solubles du Cr et du Zn, est réalisée par une solution mixte d'acétate d'ammonium et d'EDTA, à pH=7 avec un rapport sol/solution égal à 1/10. Cette méthode conduit à estimer la quantité d'ETM précité susceptible d'être assimilable par les végétaux.

Pour le mode opératoire les étapes sont :

- Peser 5g de sol sec tamisé à 2mm et verser dans une fiole de 100 ml ;
- Ajouter 50 ml de la solution d'extraction mixte d'acétate d'ammonium et EDTA à température ambiante ;
- Boucher sans attendre et agiter de manière à bien homogénéiser la solution ;
- Agiter aussitôt pendant 2 heures avec un agitateur culbuteur ;
- Filtrer aussitôt ;
- Dilution avec de l'eau distillée.

V.9.6.2-Analyse de la forme échangeable des ETM (Cr et Zn)

Méthode séquentielle

Cette méthode a pour principe d'extraire la forme échangeable (acido-solubles) des ETM, elle est réalisée par une solution d'acide acétique (CH_3COOH) à 0,11 mol/L) qui permet la dissolution des carbonates liés au métal et la libération des ions métalliques.

Les réactifs utilisés sont :

- Eau distillée ;
- Solution acide acétique (CH_3COOH) à 0,1 mol 1/L.

Pour le mode opératoire les étapes sont :

- Peser 1 g de sol prélevé dans une fiole de 100ml ;
- Ajouter 40ml d'acide acétique à 0,11 mol/L ;
- Agitation à température ambiante pendant 16 heures à l'aide d'un agitateur culbuteur ;
- Agitation pendant 20 min dans un agitateur magnétique à 300 tours/min ;
- Décantation pendant 20 min ;
- Filtration ;
- Dilution avec de l'eau distillée.

V.10-Dosage des métaux lourds (Cr et Zn) dans le sol et les plantes

Après la préparation des solutions d'extraction, ces dernières sont soumises aux dosages des ETM au « Spectrophotomètre par Absorption Atomique » ou « SAA ».fig V.1

Chapitre VI : Résultats et discussions

Section1 : Résultats de la bioremediation

VI.1-Caractéristiques du sol

Les résultats des caractéristiques du sol sont présentés sur le tableau VI.1.L'humidité résiduelle de ce sol est de 4,48%.

VI.1.1-Le pH

La mesure du pH du sol a révélé une valeur de 7,45, on déduit que ce sol est un sol à pH légèrement alcalin (AFNOR, 1994) (annexe 1).

VI.1. 2-Le Calcaire total

Cet échantillon de sol présente une teneur de 1,12% , cette teneur est inférieur à 5%, ce qui permet de déduire que ce sol est non calcaire (AFNOR, 1994) (annexe.1).

VI.1.3-La conductivité électrique (CE)

Elle est de 0,11dS/m, cette valeur est inférieure à 0,3dS/m, l'échantillon du sol étudié est non salin (Clement, 2003).

VI.1.4-Le phosphore échangeable

Les résultats obtenus montrent que la teneur du sol en phosphore échangeable est de 28,35mg/kg. Ce sol a une teneur moyenne de phosphore échangeable. (AFNOR, 1994) (annexe.1)

VI.1.5 -Le potassium échangeable

La teneur du potassium échangeable dans notre échantillon du sol est de 1,25mg/kg sol. Le sol présente une teneur moyenne de potassium échangeable.

VI.1.6-La teneur naturel (teneur initiale du zinc dans le sol)

Le zinc de la solution du sol est extrait de 250mg de sol avec 10ml d'acide nitrique HNO₃ concentré apporté à ébullition, jusqu'à l'obtention d'une solution claire. Ce résultat montre que la teneur initiale (avant l'expérimentation) du sol en zinc est de 1,75mg/kg sol.

VI.1.7 -Le taux de matière organique (MO%)

Le taux de la matière organique est de 2,40 %, cette teneur est assez élevée, dû à la présence de débris végétaux au niveau de l'horizon de surface.

VI.1.8-Azote total

La valeur de l'azote totale obtenue est de 0,09%. Elle montre que notre sol est riche en azote.

VI.1.9-Le rapport C/N

Le rapport C/N de notre sol est de 15,55, cette valeur indique que la matière organique est bien décomposée.

VI.1.10-Azote assimilable

La teneur de notre échantillon du sol en azote assimilable est de 9,63 mg/kg ce qui permet de dire que c'est un sol moyennement pauvre en azote.

VI.1.11-Capacité d'échange cationique (CEC)

La capacité d'échange cationique de cet échantillon de sol est assez élevée.

VI.1.12-La texture du sol

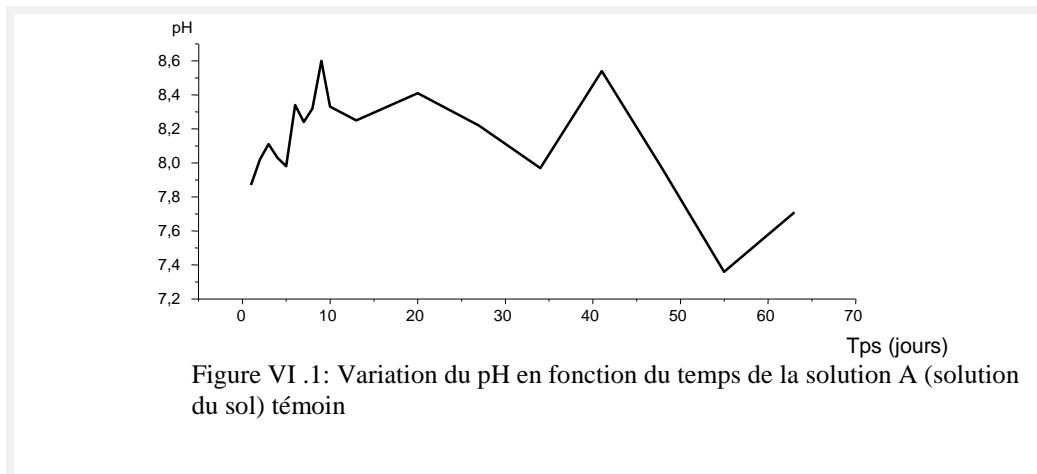
La texture du sol étudiée est limoneuse d'après le triangle texturale (USDA, 1954).

Tableau VI.1: Résultats des caractéristiques du sol.

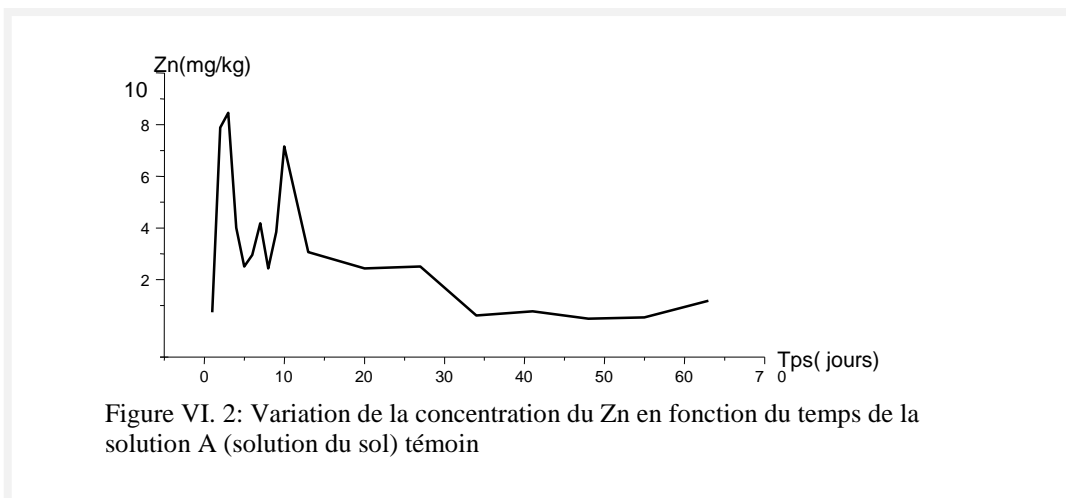
Caractéristiques du sol	Résultats	
Hr %	4,48	
pHeau	7,45	
Calcaire total%	1,12	
CE (ds/m)	0,11	
Phosphore échangeable (ppm)	28,35	
Potassium échangeable (Cmol/kg)	1,25	
Zinc initiale dans le sol mg/kg	1 ,75	
Caractéristiques biochimiques	CO%	1,4
	MO%	2,40
	N total%	0,09
	C/N	15,55
	N assimilable (mg/kg)	9,63
Complexe adsorbant Cmol+ /kg de sol	Ca ⁺⁺	2,09
	K ⁺	1,25
	Na ⁺	2,25
	Mg ⁺⁺	4,59
	S	10,18
	CEC	11
Granulométrie(%)	Argile	24,14
	limons Fins	21,46
	Limons grossiers	13,95
	Sables fins	12,23
	Sables grossiers	22,29
	Classe Texturale	limoneuse

VI-2-Mesure du pH et de la concentration du zinc dans les solutions du sol (A, B, C, et D)

Les résultats de la mesure du pH et de la concentration du zinc dans les solutions sont représentés par les figures suivantes de VI.1 à VI.8.



L'évolution du pH en fonction du temps de la solution A (témoin) est représentée par la figure VI.1. Cette dernière montre une légère fluctuation du pH pendant les premiers 45 jours de notre étude suivie par une diminution entre le 45^{ème} jour et la fin de l'expérimentation. La diminution du pH indique qu'il y'a une acidification du milieu due à l'activité microbienne par la minéralisation de la matière organique. Pendant les 10 premiers jours le pH évolue de façon sensiblement identique compris entre (7,8 et 8,3). Les 53 jours suivants l'étude, l'acidification de la solution A est plus accentuée, le pH diminue de 8,4 jusqu'à 7,7.



CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

La variation de la concentration du Zn (mg/kg) dans la solution A en fonction du temps a été déterminée. On remarque que la concentration du Zn (mg/kg) varie inversement avec la variation du pH c'est-à-dire pendant que le pH augmente la concentration du Zn dans la solution du sol A diminue. Cette diminution indique qu'il y'a une adsorption totale du Zn par les constituants du sol.

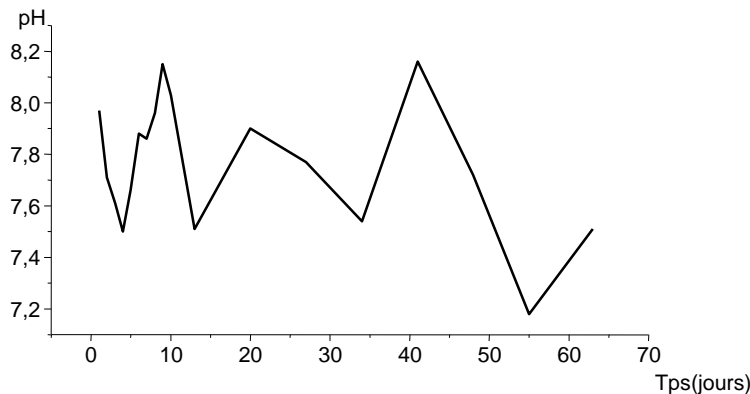


Figure VI .3: Variation du pH en fonction du temps de la solution B (Solution du sol +solution nutritive)

L'évolution du pH en fonction du temps de la solution B (solution du sol+solution nutritive) est représentée sur la figure VI.3. Nous observons une fluctuation du pH pendant les premier 45 jours de notre étude suivie par une diminution entre le 45^{ème} jour et la fin de l'expérimentation. La diminution du pH indique qu'il y'a une acidification du milieu due à l'activité microbienne par la minéralisation de la matière organique. Pendant les 34 premier jours le pH évolue de façon sensiblement identique compris entre (8 et 7,5) et les 29 jours suivants la variation est un peu plus remarquable car il diminue de 8,2 jusqu'à 7,5. Comparativement à la solution A, l'acidification de la solution B est plus rapide, ceci s'explique par la stimulation des micro-organismes par l'apport de la solution nutritive.

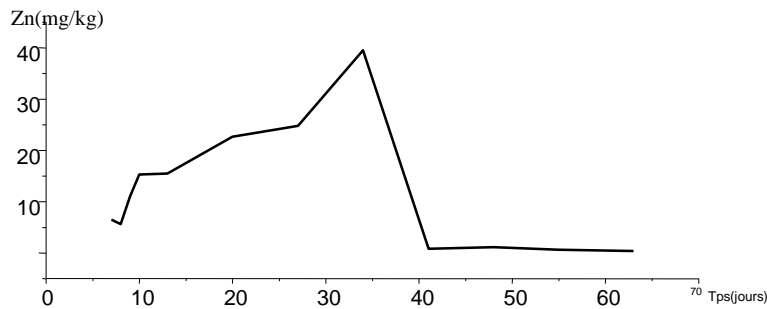


Figure VI.4 : Variation de la concentration du Zn (mg/kg) en fonction du temps de la solution B (Solution du sol + solution nutritive).

L'évolution de la concentration du Zinc en fonction du temps de la solution B est représentée sur la figure VI. 4. On remarque une augmentation de la concentration du Zn entre le 9^{ième} jour et le 34^{ième} jour, suivie d'une forte diminution de la concentration du Zn. A partir du 42^{ième} jour on atteint un palier où on détecte des traces du Zn.

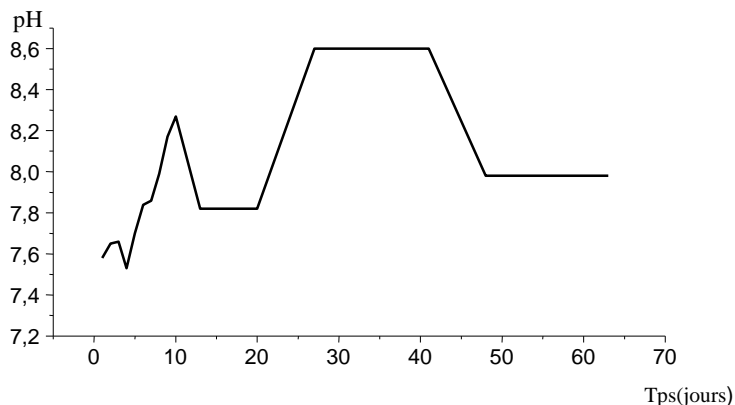


Figure VI. 5: Variation du pH en fonction du temps de la solution C (Solution du sol+Zinc)

La figure VI.5 représente la variation du pH dans la solution C en fonction du temps, on remarque que dans les 25 premiers jours le pH présente une fluctuation à tendance croissante allant du pH 7,6 à 8,3. Ce qui correspond à un milieu de pH alcalin. Au-delà du 25 jours jusqu'aux 40 jours un palier est observé à pH8,6, suivi d'une décroissance jusqu'au pH7,9. Un palier est atteint à 47 jours à cette dernière valeur du pH jusqu'à la fin de l'expérimentation.

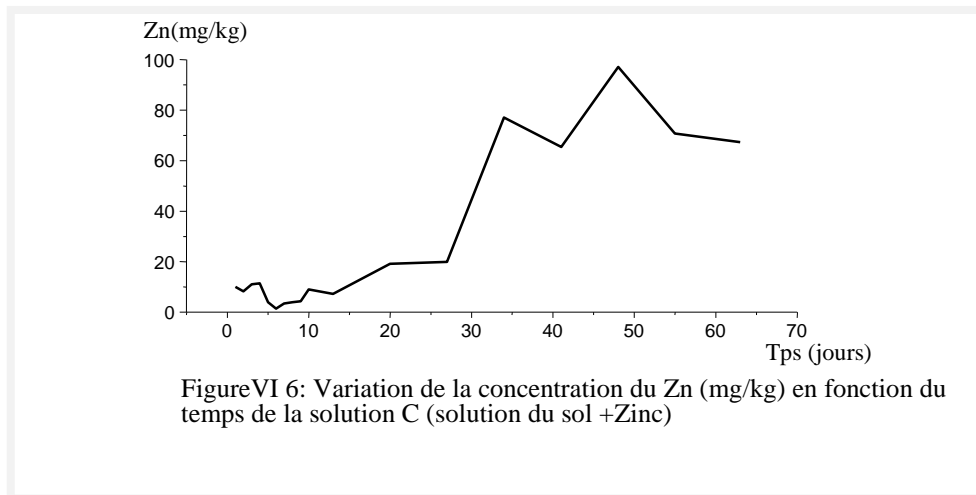


Figure VI.6: Variation de la concentration du Zn (mg/kg) en fonction du temps de la solution C (solution du sol + Zinc)

La variation de la concentration du zinc en fonction du temps de la solution C est représentée dans la figure VI.6. Nous observons qu'il y'a une faible concentration du Zn pendant les 20 premiers jours, suivie par une augmentation durant le reste de l'expérimentation. Par hypothèse, on peut déduire que cette augmentation est due un relargage par les bactéries d'une partie du Zn sans atteindre le seuil de la pollution du sol.

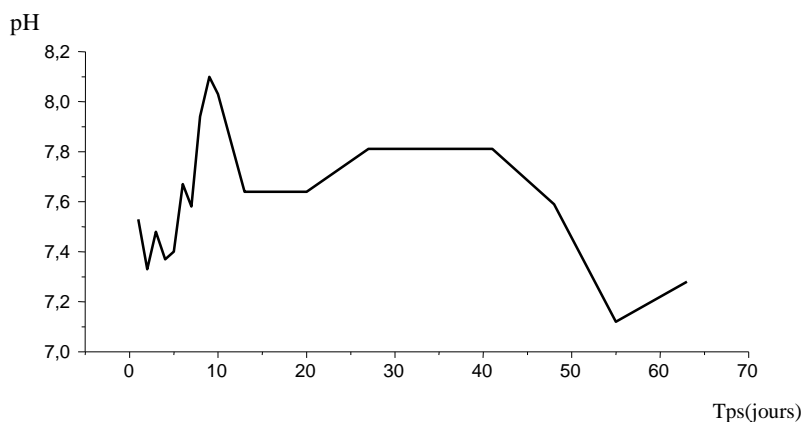


Figure VI.7: Variation du pH en fonction du temps de la solution D (Solution du sol+ Zinc+ solution nutritive)

La figure VI.7 représente la variation du pH dans la solution D en fonction du temps, au niveau de cette courbe on remarque une fluctuation croissante du pH pendant les premiers 10 jours de notre expérimentation, suivie par une rapide diminution pour atteindre un palier à 12 jours jusqu'à 42 jours. La diminution du pH indique qu'il y'a une acidification du milieu due à l'activité microbienne par la minéralisation de la matière organique.

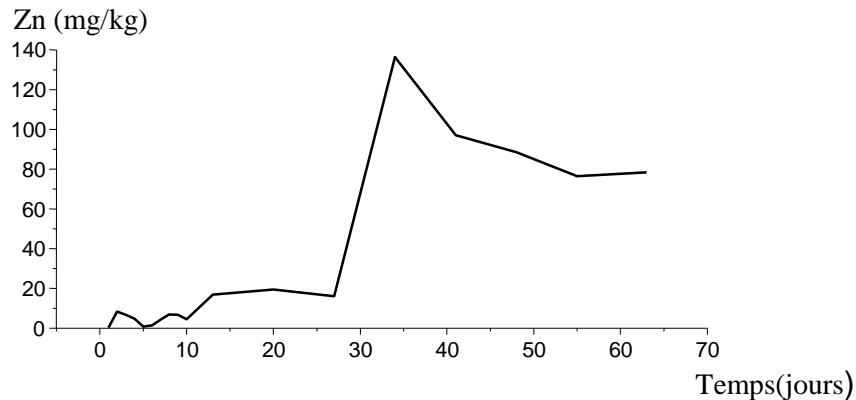


Figure VI.8: Variation de la concentration du Zn(ppm) en fonction du temps de la solution D (solution du sol+Zinc+solution nutritive)

L'évolution de la concentration du zinc en fonction du temps de la solution D est représentée par la figure VI.8. Elle montre que la concentration en zinc dans le surnageant est pratiquement constante dans le milieu enrichi pendant les 27 premiers jours ; juste après on remarque une rapide augmentation entre le 27^{ième} et le 35^{ième} jours, suivie d'une diminution après le 35^{em} jours. On constate ensuite une forte diminution de la concentration du Zn.

Discussion

Les résultats obtenus lors de notre expérimentation de la solution A, où on a utilisé uniquement l'échantillon du sol (témoin) montrent une adsorption totale du Zn présent naturellement dans la solution du sol qui est égale à 1,75 mg/kg. D'après **Deschamps , 2006** et **Lamy, 2002** : le Zn peut être adsorbé et immobilisé par les minéraux argileux ou complexés par la matière organique du sol en formant un complexe organo-métallique. Notre échantillon du sol a un taux élevé de matière organique (2,40%) et une texture limoneuse. Quand on stimule les micro-organismes par un apport de solution nutritive, le pH de la solution B et la concentration en Zn (mg/kg) de la solution B montrent que le Zn est soit immobilisé sous l'effet de l'activité microbienne ou adsorbé par les autres constituants du sol (Texture, matière organique), ce qui explique la diminution de la concentration du Zn dans la solution B .De ces résultats, on en déduit que le pH peut avoir un effet inverse en présence de matière organique. Les travaux de **Wu et al, 2002**, **Juste et al, 1995** ; **Kabata-Pendias et Pendias ,2001** ont montré qu'un pH peu élevé (pH alcalin) favorise la dissolution des acides humiques et l'augmentation de la concentration dissoute du Cu .Notons que dans le sol le Cu a le même

comportement que le Zn. Les résultats de la variation de la concentration en mg/kg du zinc de la solution C, montrent qu'à court terme, on a une adsorption totale du Zn. La même observation a été enregistrée dans le témoin, bien que nous ayons ajouté 450mg/kg au départ (une forte concentration de Zn par rapport à la concentration initiale. Elle dépasse le seuil de la pollution des sols selon les normes AFNOR et sans que les micro-organismes ne soient stimulés par un apport nutritif. Par contre, à long terme, une partie du Zn a été relarguée dans la solution du sol sans atteindre le seuil de la pollution du sol en Zn. Ceci s'explique par le fait que le Zn est fixé avec les autres constituants du sol ou bien utilisé par les micro-organismes qui sont déjà présents dans le sol sans qu'il ne soient stimulés. Le pH de la solution C est élevé. Il est à signaler que les mêmes résultats ont été observés par **Bruemmer et al (1988)**. Les résultats des concentrations du Zn de la solution D, où on a stimulé les micro-organismes par un apport nutritif montrent une forte adsorption du Zn concernant l'échantillon pollué. Par hypothèse on peut déduire que le Zn est immobilisé sous l'effet de l'activité microbienne. Ceci pendant les 10 premiers jours, c'est-à-dire à court terme. A long terme, on observe une augmentation de la concentration du Zn dans la solution du sol, on revient à ce que nous avons dit précédemment qu'en présence de la matière organique et un pH élevé, il y'a dissolution des acides humiques et augmentation de la concentration du Zn dissout en raison de la formation du complexe métallo-organique en solution. Donc on remarque un relargage du Zn dans la solution D sans atteindre le seuil de la pollution du sol en Zn. On peut justifier, dans le cas de l'augmentation du Zn mobile à long terme dans la solution du sol par deux autres facteurs :

- Réduction de la teneur en matière organique qui a été utilisée par les micro-organismes vivants comme sources de carbone et d'énergie dans le cas où les micro-organismes ont utilisé la totalité de l'apport nutritif ou bien le milieu est non enrichi par un apport nutritif ;
- Ces micro-organismes en se développant au dépend de la matière organique ont acidifié le milieu qui lui-même devient plus riche en Zn.

En résumé, d'après les résultats obtenus, on peut expliquer la fluctuation de la concentration du Zn des solutions (A, B, C, et D) par l'activité des micro-organismes, la texture et le taux de la matière organique de l'échantillon du sol. Rappelons que le pH du sol est un facteur important qui intervient dans la sorption et l'adsorption du Zn dans le sol. On conclut que la mobilité du Zn dans la solution du sol dépend de deux facteurs : les micro-organismes et le pH. Dans cette étude nous avons mis en relief le rôle des micro-organismes et du pH sur la concentration du Zn dans la solution du sol.

Section 2 : Résultats de la phytoremediation

VI.3 Résultats de l'effet des concentrations croissantes du zinc sur le développement du colza

Dans notre expérimentation, on rappelle qu'on a utilisé un échantillon du sol (mélange 1/3Terreau, 2/3 Sol), dans des pots de 250g.Cet échantillon a été analysé avant le semis et les résultats des analyses ont été présentés dans le tableau VI.1.Il s'agit du même échantillon utilisé pour l'étude de la bioremédiation

VI.3.1-La hauteur de la partie aérienne

Lors de la mise en place du dispositif expérimental et du semis des graines en pots, on a mesuré la hauteur des tiges chaque quinze jours (2 semaines) sauf vers la fin de l'expérimentation où la mesure a été faite après trente jours (4 semaines).Pour l'interprétation statistique des résultats, on a opté pour l'étude des corrélations faite à l'aide du logiciel Excel 2007 et la table des coefficients de corrélation. La même procédure a été adaptée pour les autres paramètres. Les résultats sont présentés sur le tableau VI.2

Tableau VI.2: Moyennes des hauteurs des tiges en (cm) à chaque prélèvement.

	Zn ₀	Zn ₁	Zn ₂	Zn ₃	Zn ₄	Zn ₅
2 ^{ème} semaine	3,4	4,5	5,3	4,9	5,15	5,85
4 ^{ème} semaine	12,9	11,9	10,05	11	12,85	10,1
6 ^{ème} semaine	12,9	11,5	15,4	13,75	15	12,8
8 ^{ème} semaine	13,85	12,4	13,75	12,5	13,8	13,9
12 ^{ème} semaine	16	16,9	17,2	15,8	21,85	24,6

D'après les résultats présentés dans le tableau VI.2, on peut constater que :

✓ La hauteur des tiges augmente d'un prélèvement à un autre durant toute la durée de l'expérimentation. Sauf dans quelques cas où on a enregistré une légère diminution des hauteurs de la huitième semaine par rapport à ceux de la sixième semaine. Cela, est en relation avec les attaques parasitaires de la partie aérienne survenue entre ces deux semaines.

✓ L'augmentation de la hauteur des tiges est rapide depuis la deuxième semaine jusqu'à la quatrième semaine (phase de croissance). Ensuite, elle a tendance à stagner.

VI.3.1.1-Premier prélèvement (2^{ème} semaine)

On remarque que, la hauteur des tiges tend à être en augmentation depuis le Zn₀ (3,4cm) jusqu'au Zn₂ (5,3cm), puis on note une diminution en Zn₃ (4,9cm), ensuite l'augmentation reprend entre le Zn₄ et le Zn₅ (de 5,15cm jusqu'à 5,85cm). La corrélation entre la hauteur des tiges et les concentrations croissantes du Zn dans ce premier prélèvement est significative (tableau VI.3). r (observée)= 0.87 > r (théorique)=0.81

VI.3.1.2-Deuxième prélèvement (4^{ème} semaine)

Dans ce cas la hauteur des tiges a diminué depuis le Zn₀ jusqu'au Zn₂, on a enregistré 12,9cm en Zn₀, 11,9cm en Zn₁ et 10,05cm en Zn₂. Depuis le Zn₃ et le Zn₄, la hauteur a augmenté de 11cm à 12,85cm puis diminue en Zn₅ jusqu'à 10,1cm. La corrélation entre la hauteur des tiges et les concentrations croissantes du Zn dans ce prélèvement est non significative (tableau VI.3) r (obs)= 0.42 < r (théo)=0.81

VI.3.1.3- Troisième prélèvement (6^{ème} semaine)

La hauteur des tiges est passée de 12,9 cm à 11,5cm depuis le Zn₀ jusqu'au Zn₁, puis augmente en Zn₂ (15,5cm) et diminue encore en Zn₃ ou elle atteint 13,75cm. On a enregistré une mesure de 15cm en Zn₄ et de 12,8cm en Zn₅. La corrélation entre la hauteur des tiges et les concentrations croissantes du Zn dans ce prélèvement est non significative (tableau VI.3) r (obs)= 0.30 < r (théo)=0.81

VI.3.1.4-Quatrième prélèvement (8^{ème} semaine)

Dans ce prélèvement les valeurs enregistrées sont rapprochées puisque l'intervalle entre la plus grande valeur (13,9cm enregistrée en Zn₅) et la plus basse valeur (12,4cm enregistrée en Zn₁) ne dépasse pas 1,5cm. Les autres valeurs enregistrées sont les suivantes : 13,85cm en Zn₀, 13,75cm en Zn₂, 12,5cm en Zn₃ et 13,8cm en Zn₄. La corrélation entre la hauteur des tiges et les concentrations croissantes du Zn dans ce prélèvement est non significative (tableau VI.3) r (obs)= 0.23 < r (théo)=0.81

VI.3.1.5-Cinquième prélèvement (12^{ème} semaine)

A ce niveau, la mesure de la hauteur est passée de 16 cm à 17,2cm depuis le Zn₀ jusqu'au Zn₂. D'où une augmentation de 1,2cm est enregistrée, puis diminue en Zn₃ où on a enregistré une valeur de 15.8cm et augmente significativement en Zn₄ (21,85cm) et en Zn₅ (24,6cm).

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

La corrélation entre la hauteur des tiges et les concentrations croissantes du Zn lors de ce prélèvement est significative (Tableau VI.3) $r(\text{obs}) = 0.83 > r(\text{théo}) = 0.81$

Tableau VI.3: Corrélations entre les hauteurs des tiges et les doses croissantes du Zn à chaque prélèvement.

Semaines	Equation de régression	Coefficient de détermination(R^2)	Coefficient de corrélation(r)
2 ^{ème} semaine	$y = 0.394x + 3.47$	$R^2 = 0.77$	0.87
4 ^{ème} semaine	$y = 0.291x + 12.48$	$R^2 = 0.18$	0.42
6 ^{ème} semaine	$y = 0.238x + 13.04$	$R^2 = 0.09$	0.30
8 ^{ème} semaine	$y = 0.091x + 13.04$	$R^2 = 0.05$	0.23
12 ^{ème} semaine	$y = 1.612x + 13.08$	$R^2 = 0.69$	0.83

$r(\text{théo}) = 0.81$ pour $ddl = 4$ et $\alpha = 5\%$

On remarque qu'il y a une corrélation significative et positive entre la hauteur des tiges et les concentrations croissantes du Zn uniquement au premier et dernier prélèvement, tandis qu'aux autres prélèvements les corrélations sont non significatives.

VI.3.2-La longueur des racines

Les résultats de la mesure des longueurs des racines sont illustrés sur le tableau VI.4:

Tableau VI.4: Moyennes des longueurs des racines en (cm) à chaque prélèvement.

Semaines	Zn ₀	Zn ₁	Zn ₂	Zn ₃	Zn ₄	Zn ₅
2 ^{ème} semaine	5,25	4,9	10,35	14	10	10,5
4 ^{ème} semaine	18,25	12	18,85	16,2	12,25	9,95
6 ^{ème} semaine	17	16	18,5	15,5	17,5	22
8 ^{ème} semaine	23,85	18,5	18	17,75	15,5	20,75
12 ^{ème} semaine	17,5	18	22	21,5	21,5	25

D'après les résultats indiqués dans le tableau VI.4, on remarque quel que soit la concentration du Zn, la croissance des racines en fonction du temps varie de façon progressive ou régressive. Cette variation est due au fait qu'au cours du temps les racines du colza se ramifient et se condensent dans les pots et étant donné que ces racines sont fines et fragiles, il est pratiquement impossible de les séparer du sol sans affecter leurs longueurs ce qui engendre un certain degré d'erreur.

VI.3.2.1-Premier prélèvement (2^{ème} semaine)

Selon le tableau VI.4 on remarque qu'à la deuxième semaine la longueur des racines en Zn_0 est 5,25cm, elle diminue en Zn_1 jusqu'à 4,9 cm, puis elle connaît une forte augmentation au niveau du Zn_2 , Zn_3 , en enregistrant respectivement les valeurs suivantes : 10,35 cm et 14 cm, et une diminution au niveau de Zn_4 (10 cm) et Zn_5 (10,5 cm). La corrélation entre la longueur des racines et les concentrations croissantes du Zn dans ce prélèvement est non significative (tableau VI.4) $r(\text{obs})= 0.69 < r(\text{théo})=0.81$

VI.3.2.2-Deuxième prélèvement (4^{ème} semaine)

A la 4^{ème} semaine, la longueur des racines diminue de 18,25cm à 12cm de Zn_0 au Zn_1 , puis augmente à 18,85cm en Zn_2 , ensuite on note une diminution depuis le Zn_2 jusqu'au Zn_5 en enregistrant les valeurs suivantes : 16,2 cm à Zn_3 , 12,25cm en Zn_4 , 9,95 cm en Zn_5 . La corrélation entre la longueur des racines et les concentrations croissantes du Zn dans ce prélèvement est non significative (tableau VI.5) $r(\text{obs})= 0.62 < r(\text{théo})=0.81$

VI.3.2.3-Troisième prélèvement (6^{ème} semaine)

On remarque que la longueur des racines en Zn_0 est de 17cm, elle diminue jusqu'à 16 cm en Zn_1 , ensuite elle augmente à 18,5cm en Zn_2 , puis se diminue jusqu'à 15,5cm en Zn_3 , à partir de cela la longueur augmente de 17,5 cm en Zn_4 jusqu'à 22cm en Zn_5 . La corrélation entre la longueur des racines et les concentrations croissantes du Zn dans ce prélèvement est non significative (tableau VI.5) $r(\text{obs})= 0.60 < r(\text{théo})=0.81$

VI.3.2.4-Quatrième prélèvement (8^{ème} semaine)

A la 8^{ème} semaine la longueur des racines est maximale en Zn_0 23,85 cm, ensuite elle diminue depuis le Zn_1 jusqu'à Zn_4 en marquant respectivement les valeurs suivantes 18.5 cm, 18 cm, 17,75 cm et 15,5cm. A Zn_5 , elle augmente jusqu'à 22 cm. La corrélation entre la longueur des racines et les concentrations croissantes du Zn dans ce prélèvement est non significative (tableau VI.5) $r(\text{obs})= 0.45 < r(\text{théo})=0.81$

VI.3.2.5-Cinquième prélèvement (12^{ème} semaine)

La longueur des racines enregistrée en Zn_0 est 17,5 cm, elle augmente en Zn_1 (18 cm) et en Zn_2 (22 cm), puis elle diminue légèrement en Zn_3 et Zn_4 enregistrant une valeur de 21,5 cm. Ensuite elle augmente encore jusqu'à 25 cm en Zn_5 . La corrélation entre la longueur des

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

racines et les concentrations croissantes du Zn dans ce prélèvement est significative (tableau VI.5) $r(\text{obs})= 0.91 < r(\text{théo})=0.81$

Tableau VI.5: Corrélations entre les longueurs des racines et les concentrations du Zn à chaque prélèvement.

Période de prélèvement	Equations de régressions	Coefficients de détermination(R^2)	Coefficients de corrélation (r)
2 ^{ème} semaine	$y=1,291 x + 4,646$	0,48	0,69
4 ^{ème} semaine	$y= -1,24 x + 18,92$	0,39	0.62
6 ^{ème} semaine	$y= 0,757 x + 15,1$	0,36	0.60
8 ^{ème} semaine	$y= -0,707 x + 21,53$	0,20	0,44
12 ^{ème} semaine	$y=1,357 x + 16,16$	0,83	0.91

$r(\text{théo})=0.81$ pour $ddl=4$ et $\alpha=5\%$

Selon les résultats mentionnés sur le tableau VI.5, on remarque que les corrélations sont non significatives dans tous les prélèvements, sauf dans le dernier cas. Ce qui traduit que l'effet des concentrations du zinc sur le développement des racines n'est apparu qu'à la douzième semaine.

VI.3.3-Le nombre de feuilles

Le nombre de feuilles a été mesuré à chaque prélèvement, et les résultats sont présentés sur le tableau VI.6.

Tableau VI.6: Moyennes du nombre des feuilles à chaque prélèvement.

Période prélèvements	Zn ₀	Zn ₁	Zn ₂	Zn ₃	Zn ₄	Zn ₅
2 ^{ème} semaine	12	9	26	20	16	30
4 ^{ème} semaine	28	12	42	42	54	49
6 ^{ème} semaine	30	61	13	28	37	33
8 ^{ème} semaine	22	52	47	21	33	36
12 ^{ème} semaine	38	28	47	48	67	81

D'après les résultats mentionnés sur le tableau VI.6, on déduit que la plus grande valeur a été enregistrée après douze semaines de semis et à une concentration de Zn₅ avec 81feuilles, tandis que les plus basses valeurs 9 et 12 feuilles ont été enregistrées à une concentration de Zn₁ et Zn₀, deux semaines après semis.

VI.3.3.1-Premier prélèvement (2^{ème} semaine)

Le nombre des feuilles enregistrées en Zn_0 est 12, en Zn_1 ce nombre a diminué et atteint 9 feuilles, puis augmente significativement jusqu'à 26 feuilles en Zn_2 , ensuite on note une diminution en Zn_3 et en Zn_4 enregistrant respectivement les valeurs suivantes : 20 feuilles, 16 feuilles. Enfin en Zn_5 le nombre augmente à 30feuilles.La corrélation entre le nombre des feuilles et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.7) $r (obs)=0.69 < r (théo)=0.81$.

VI.3.3.2-Deuxième prélèvement (4^{ème} semaine)

Après quatre semaines de semis on a dénombré 28 feuilles en Zn_0 et 12 feuilles en Zn_1 , puis on note une augmentation en Zn_2 et Zn_3 ou on a enregistré la même valeur 42 feuilles, en Zn_4 le nombre de feuilles a augmenté à 54 feuilles, puis il a diminué jusqu'à 49 feuilles en Zn_5 .La corrélation entre le nombre des feuilles et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.7) $r (obs)=0.80 < r (théo)=0.81$.

VI.3.3.3-Troisième prélèvement (6^{ème} semaine)

A ce prélèvement le nombre des feuilles est passé de 30 feuilles à 61 feuilles entre le Zn_0 et le Zn_1 , ensuite il diminue très significativement jusqu'à 13 feuilles en Zn_2 et augmente encore en Zn_3 (28 feuilles) et en Zn_4 (37 feuilles) puis il passe à 33 feuilles en Zn_5 .La corrélation entre le nombre des feuilles et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.7) $r (obs)=0.14 < r (théo)=0.81$

VI.3.3.4-Quatrième prélèvement (8^{ème} semaine)

On remarque que le nombre le plus élevé des feuilles a été enregistré en Zn_1 avec 52 feuilles tandis que le nombre le plus bas est enregistré en Zn_3 avec 21 feuilles, pour les autres concentrations, on a dénombré 22 feuilles en Zn_0 , 47feuilles en Zn_2 , 33 feuilles en Zn_4 et 36 feuilles en Zn_5 .La corrélation entre le nombre des feuilles et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.7) $r (obs)=0.05 < r (théo)=0.81$

VI.3.3.5-Cinquième prélèvement (12^{ème} semaine)

A ce prélèvement on remarque qu'à une concentration Zn_0 le nombre des feuilles est 38, il diminue ensuite jusqu'à 28 feuilles en Zn_1 . Depuis cela on remarque que le nombre de

feuilles augmente en fonction des concentrations en enregistrant les valeurs suivantes : 47 feuilles en Zn₂, 48 feuilles en Zn₃, 67 feuilles en Zn₄ et enfin 81 feuilles en Zn₅. La corrélation entre le nombre des feuilles et les concentrations croissantes du Zn est significative (tableau VI.7) $r(\text{obs})=0.91 < r(\text{théo})=0.81$.

Tableau VI.7 : Corrélations entre le nombre de feuilles et les concentrations croissantes du Zn à chaque prélèvement.

Période prélèvements	Equation de régression	Coefficient de détermination(R ²)	Coefficient de régression(r)
2 ^{ème} semaine	$y = 3x + 8.333$	$R^2 = 0.47$	0.69
4 ^{ème} semaine	$y = 6.6x + 14.73$	$R^2 = 0.64$	0.80
6 ^{ème} semaine	$y = 1.2x + 37.86$	$R^2 = 0.02$	0.14
8 ^{ème} semaine	$y = 0.371x + 30.46$	$R^2 = 0.003$	0.05
12 ^{ème} semaine	$y = 9.514x + 18.2$	$R^2 = 0.84$	0.91

$r(\text{théo})=0.81$ pour ddl=4 et $\alpha=5\%$

Les corrélations entre le nombre des feuilles et les concentrations croissantes du Zn sont non significatives dans tous les prélèvements, sauf pour le dernier prélèvement où on voit une corrélation nettement significative.

VI.3.4-Le rendement en matière fraîche

Les résultats du rendement en poids frais du colza sont indiqués sur le tableau VI.8 :

Tableau VI.8: Moyennes du rendement en poids frais en (g /pot) à chaque prélèvement.

Période prélèvement	Zn ₀	Zn ₁	Zn ₂	Zn ₃	Zn ₄	Zn ₅
2 ^{ème} semaine	0,371	0,371	1,035	0,483	0,585	1,139
4 ^{ème} semaine	4,771	2,796	4,485	4,755	4,880	3,912
6 ^{ème} semaine	9,907	11,241	9,143	8,210	6,703	10,874
8 ^{ème} semaine	10,101	10,867	13,427	9,588	11,079	12,509
12 ^{ème} semaine	17,7961	16,796	19,827	21,71	21,975	29,631

Selon les résultats du tableau VI.8, on remarque que quelque soit la concentration du zinc le rendement en poids frais du colza augmente en fonction du temps.

VI.3.4.1-Premier prélèvement (2^{ème} semaine)

Le poids frais enregistré en Zn₀ est le même que celui enregistré en Zn₁ (0,371g), il augmente à 1,035g en Zn₂, puis diminue jusqu'à 0,480g en Zn₃, ensuite il augmente en Zn₄ enregistrant 0,585g, et Zn₅ enregistrant 1,139g.

La corrélation entre le rendement en poids frais et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.9) $r(\text{obs})=0.49 < r(\text{théo})=0.81$

VI.3.4.2-Deuxième prélèvement (4^{ème} semaine)

A la 4^{ème} semaine le classement du poids frais selon un ordre croissant est comme suit : 2,796g en Zn₁, 3,912g en Zn₅, 4,485g en Zn₂, 4,771g en Zn₀, 4,755g en Zn₃ et enfin 4,880g en Zn₄. La corrélation entre le rendement en poids frais et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.9) $r(\text{obs})=0.14 < r(\text{théo})=0.81$

VI.3.4.3-Troisième prélèvement (6^{ème} semaine)

A Zn₀ le poids frais est de 9,907g, il augmente à 11,241g en Zn₁, ensuite il diminue depuis le Zn₂ jusqu'à Zn₄ en enregistrant les valeurs suivantes : 9,143g en Zn₂, 8,210g en Zn₃, 6,703g en Zn₄. En Zn₅ on remarque une augmentation jusqu'à 10,874g. La corrélation entre le rendement en poids frais et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.9) $r(\text{obs})=0.30 < r(\text{théo})=0.81$

VI.3.4.4-Quatrième prélèvement (8^{ème} semaine)

Après 8 semaines de semis le poids frais augmente de Zn₀ jusqu'à Zn₂ enregistrant respectivement les valeurs suivantes 10,101g, 10,867g, 13,427g, ensuite en Zn₃ il diminue jusqu'à 9,588g puis augmente à 11,079g en Zn₄ et à 12,509g en Zn₅. La corrélation entre le rendement en poids frais et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.9) $r(\text{obs})=0.32 < r(\text{théo})=0.81$.

VI.3.4.5-Cinquième prélèvement (12ème semaine)

A la douzième semaine le poids frais du colza est égal à 17,796 g en Zn₀, il diminue jusqu'à 16,161g en Zn₁ ensuite en Zn₂ il augmente à 19,827g, à partir de Zn₃ le poids frais augmente en enregistrant les valeurs suivantes : 21,71g en Zn₃, 21,975g en Zn₄, et enfin 29,631g en Zn₅. La corrélation entre le rendement en poids frais et les concentrations croissantes du Zn est significative (tableau VI.9) $r(\text{obs})=0.89 < r(\text{théo})=0.81$.

Tableau VI.9 : Corrélations entre les rendements en poids frais et les concentrations croissantes du Zn à chaque prélèvement.

Période prélèvements	Equations de régressions	Coefficients de détermination(R ²)	Coefficients de corrélation (r)
2 ^{ème} semaine	y=0,81 x +0,439	R ² =0.246	0.49
4 ^{ème} semaine	y=0,063 x + 4,043	R ² =0.022	0.14
6 ^{ème} semaine	y=0,277 x +10,31	R ² =0.092	0.30
8 ^{ème} semaine	y=0,252 x + 10,37	R ² = 0.105	0.32
12 ^{ème} semaine	y=2,188 x + 13,63	R ² = 0.8	0.89

$r(\text{théo})=0.81$ pour ddl=4 et $\alpha=5\%$

D'après les résultats indiqués dans le tableau VI.9 on déduit que la corrélation entre le poids frais du colza et les concentrations croissantes du Zn est significative et positive dans le dernier prélèvement, et est non significative dans les autres prélèvements.

VI.3.5-Le rendement en matière sèche

Les résultats du rendement en poids sec du colza sont indiqués sur le tableau VI.10

Tableau VI.10: Moyennes du rendement en poids sec en (g/pot) à chaque prélèvement.

Semaines	Zn ₀	Zn ₁	Zn ₂	Zn ₃	Zn ₄	Zn ₅
2 ^{ème} semaine	0,044	0,040	0,102	0,075	0,068	0,117
4 ^{ème} semaine	0,653	0,274	0,521	0,682	0,636	0,465
6 ^{ème} semaine	1,082	1,592	1,373	1,195	1,08	1,311
8 ^{ème} semaine	2,057	2,097	2,788	2,132	2,231	2,337
12 ^{ème} semaine	2,808	3,480	3,737	5,080	6,013	6,772

Selon le tableau VI.10 on remarque que le rendement en poids sec varie dans le même sens que le rendement en poids frais.

VI.3.5.1-Premier prélèvement (2^{ème} semaine)

Le rendement en poids sec ne varie pas entre le Zn₀ (0,044g) et le Zn₁ (0,040g), il augmente jusqu'à 0,102g en Zn₂ puis diminue en Zn₃ et Zn₄ où on a enregistré respectivement : 0,075g et 0,068g. En Zn₅ le rendement est maximal et la valeur enregistrée est 0,117g. La corrélation entre le rendement en poids sec et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.11) $r(\text{obs})=0.73 < r(\text{théo})=0.81$

VI.3.5.2-Deuxième prélèvement (4^{ème} semaine)

Après la quatrième semaine de semis, le rendement en poids sec est élevé en Zn₀ (0,653g) par rapport à celui enregistré en Zn₁ (0,274g), il augmente jusqu'à 0,521g en Zn₂ et jusqu'à 0,682g en Zn₃ puis diminue depuis le Zn₄ jusqu'au Zn₅ où on a enregistré respectivement : 0,0636g, 0,465g. La corrélation entre le rendement en poids sec et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.11) $r(\text{obs})=0.10 < r(\text{théo})=0.81$.

VI.3.5.3-Troisième prélèvement (6^{ème} semaine)

Dans ce cas le rendement en poids sec est égal à 1,082g en Zn₀, il augmente à 1,592g en Zn₁, ensuite il diminue depuis le Zn₂ jusqu'au Zn₄ en enregistrant respectivement les valeurs suivantes : 1,373g - 1,195g - 1,08g, puis augmente encore en Zn₅ jusqu'à 1,311g. La corrélation entre le rendement en poids sec et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.11) $r(\text{obs})=0.14 < r(\text{théo})=0.81$

VI.3.5.4-Quatrième prélèvement (8^{ème} semaine)

La variation entre les valeurs obtenues pour le poids sec à ce prélèvement est très légère, le rendement passe de 2,057g enregistré en Zn₀ à 2,097g enregistré en Zn₁, ensuite on note une augmentation maximale en Zn₂ avec 2,788g puis une diminution à 2,132g en Zn₃. En Zn₄ et Zn₅ les valeurs obtenues sont respectivement : 2,23g et 2,33g. La corrélation entre le rendement en poids sec et les concentrations croissantes du Zn est non significative (tableau VI.11) $r(\text{obs})=0.22 < r(\text{théo})=0.81$

VI.3.5.5-Cinquième prélèvement (12ème semaine)

A ce prélèvement le rendement en poids sec augmente en fonction des concentrations du Zn en enregistrant : 2,808g en Zn₀, 3,48g en Zn₁, 3,737g en Zn₂, 5,08g en Zn₃, 6,013g en Zn₄ et enfin 6,772g en Zn₅. La corrélation entre le rendement en poids sec et les concentrations croissantes du Zn est significative (tableau VI.11) $r(\text{obs})=0.98 > r(\text{théo})=0.81$.

Tableau VI.11: Corrélation entre les rendements en poids sec et les concentrations croissantes du Zn à chaque prélèvement.

Période prélèvements	Equation de régression	Coefficient de détermination	Coefficient de corrélation
2 ^{ème} semaine	$y=0.012x+0.032$	0.53	0.73
4 ^{ème} semaine	$y=0.00x+0.507$	0.01	0.10
6 ^{ème} semaine	$y=0.016x+1.329$	0.02	0.14
8 ^{ème} semaine	$y=0.032x+2.159$	0.05	0.22
12 ^{ème} semaine	$y=0.821x+1.772$	0.97	0.98

$r(\text{tab})=0.81$ pour ddl=4 et $\alpha=5\%$

Selon ces résultats on remarque qu'à la douzième semaine la corrélation entre le rendement en poids sec et les concentrations du Zn est très significative, traduisant un effet positif du Zinc sur le rendement, alors qu'elle est non significative dans tous les autres prélèvements.

VI.4.- Indice de tolérance en Zn

Audet et Charest (2007), définissent l'indice de tolérance (IT) comme étant le rapport entre le rendement en matière sèche des plantes du sol pollué et le rendement en matière sèche des plantes du sol non pollué. Dans le cas de notre étude IT représente le rapport du rendement en MS du colza du sol pollué en Zn (Zn₁ à Zn₅) sur le rendement en MS du colza du sol non pollué (Zn₀). Ce même auteur définit trois cas possibles :

- IT est inférieur à 1 cela implique que la plante a subi un stress dû à la pollution métallique et dans ce cas le rendement est faible ;
- IT est égal à 1, la plante est indifférente à la pollution métallique ;
- IT est supérieure à 1 cela implique que la plante est hyper accumulatrice.

Si l'on se réfère à nos résultats (tableau VI.12), et en tenant compte de la précédente définition on constate que l'indice de tolérance à la 12^{ème} semaine est supérieur à 1 indiquant que le colza est hyper-accumulateur du Zn.

Tableau VI .12: Valeur de l'indice de tolérance au Zn du colza en fonction du temps.

Période prélèvement	IT1	IT2	IT3	IT4	IT5
2 ^{ème} semaine	0,909	2,318	1,704	1,545	2,659
4 ^{ème} semaine	0,419	0,797	1,044	0,973	0,712
6 ^{ème} semaine	1,471	1,268	1,104	0,998	1,211
8 ^{ème} semaine	1,019	0,737	1,036	1,084	1,136
12 ^{ème} semaine	1,239	1,330	1,807	2,141	2,411

Discussion

L'objectif de cette partie est l'étude de l'effet des concentrations croissantes du Zn sur le développement des paramètres morphologiques du colza. Plusieurs études ont indiqué la phytotoxicité du zinc sur les paramètres morphologiques des plantes (**Munzuroglu et Geckil 2002 ; EL-Ghamery et al,2003**), et cette toxicité de Zn peut induire la diminution de la croissance de la plante. (**EL-Ghamery et al, 2003, Gisbert et al2006**). Nos résultats ont montré la survie de toutes les plantes et l'absence de dommages visibles, malgré des concentrations élevées du Zn dans le sol. Selon les auteurs suivants (**Brooks, 1998 ;Marichiol et al, 2004 ; Grispen et al 2006 ;Ben Ghnaya2009**), le colza (*Brassica napus.L*) est une plante hyper accumulatrice, elle est connue par son aptitude à extraire et à accumuler les métaux toxiques de par ses propriétés génétiques, l'homologie des génomes, la proximité phylogénétique avec *Arabidopsis thaliana* (**Schwartz et al 2001**). D'après les résultats de cette étude on peut déduire par hypothèse que le zinc a été accumulé dans les feuilles vue qu'en concentrations élevées à Zn5 qui correspond à 500 ppm, on a enregistré 81feuilles à la fin de l'expérimentation. Les plantes accumultrices sont définies comme étant des plantes capables d'accumuler des niveaux du métal 100 fois supérieure à ceux mesurés dans des plantes non accumultrices. Elles ont la capacité d'accumuler plus de 10000 ppm du Zn sans que cela n'affecte leur développement (**Wei et all 2006 ; Cunningham et al1995 ; Baker et Brooks 1989**). Ces résultats nous permettent de dire que l'augmentation des concentrations du Zn dans le sol a stimulé la phytoextraction, puis l'accumulation de cet élément dans la plante (**Shilpa et al 2009**). Cette accumulation s'est traduite par un développement favorisé des paramètres morphologiques du colza entre autre le nombre de feuilles. L'indice de tolérance IT calculé après 3mois d'expérimentation (12 semaines) quel que soit la concentration en Zn, est supérieur à 1. Cela qui confirme que le colza est une plante hyper accumulatrice du Zn d'où le colza est une bonne candidate pour la dépollution des sols en Zn. Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par (**Turan et Esringu, 2007;**

Jiyeon et al 2012), qui ont démontré, qu'à des concentrations moyennes à fortes du Zn dans le sol, la plante développe un système racinaire très dense et très ramifié. En effet on a remarqué qu'à des concentrations de 400ppm (Zn4) et à 500ppm (Zn5) le système racinaire du colza était plus dense par rapport à celui observé aux autres concentrations. D'après (**Challker-Scott, 1999; Stratil et al., 2006**) certaines plantes possèdent généralement des systèmes de nettoyage et des réponses à différents stress donc on peut considérer la pollution du sol par le zinc comme un stress métallique dont le colza a pu éviter ce stress . Ce qui explique les résultats obtenus. Contrairement aux travaux de (**Mudassar et al, 2014**) qui concluent qu'une phytoextraction efficace doit faire appel à plusieurs espèces de plantes, nos résultats montrent que la plante du colza à elle seule, peut supporter des valeurs élevées de zinc sans qu'elle soit affectée. Cependant d'après la littérature, le zinc en excès affectent négativement les paramètres biologiques: à savoir un retard de la croissance de la plante, la réduction de son système racinaire et aussi cause- t- il la chlorose des feuilles (**Radi et al, 1995; Wang et al., 2009; Snejana et al., 2001**) .

Contrairement au travail de **Mousavi Kouhi et al., 2014**, nos résultats montrent que la germination des graines de colza n'a pas été affectée par les valeurs élevés de zinc, peut être ceci est dut au facteur sol, sachant que l'expérience de **Mousavi Kouhi et al.,2014** a été conduite en hydroponie. En synthétisant nos résultats, quant à l'effet des concentrations croissantes du Zn sur le développement des paramètres morphologiques du colza, il est apparu après trois mois du développement de la plante que l'augmentation des concentrations du Zn dans le sol a un effet positif sur les paramètres étudiés.

VI.5-Dépollution d'un sol urbain contaminé par les métaux lourds

Avant de travailler sur la phytoremediation. Nous avons procédé à l'échantillonnage de sols: un pollué prélevé au niveau de la commune de Béni Messous, qui est un sol d'aspect noirâtre, et un sol témoin non pollué prélevé au niveau de la commune de Staouali, qui est un sol d'aspect rougeâtre. Les dosages du Cr et Zn dans les deux plantes (gazon et tomate industrielle) et dans les deux sols (non pollué et pollué) ont donné les résultats représentés dans les tableaux et les histogrammes suivants : TV représente les plantes développées sur sol non pollué (sol de Staouali), R1Vet R2V représentent les plantes développées sur sol pollué (sol de Beni Messous).

Tableau VI.13:Les teneurs des métaux lourds dans le gazon en mg/kg

Formes	Pots	Zn	Cr
Soluble	TV	4.44	0
	R1 V	2.5	0.412
	R2 V	7.63	0.426
Echangeable	T V	0.48	0.845
	R1 V	17.31	2.596
	R2 V	1.763	1.2625

Les résultats du tableau VI.21 sont illustrés dans l’histogramme suivant (figure VI.9) :

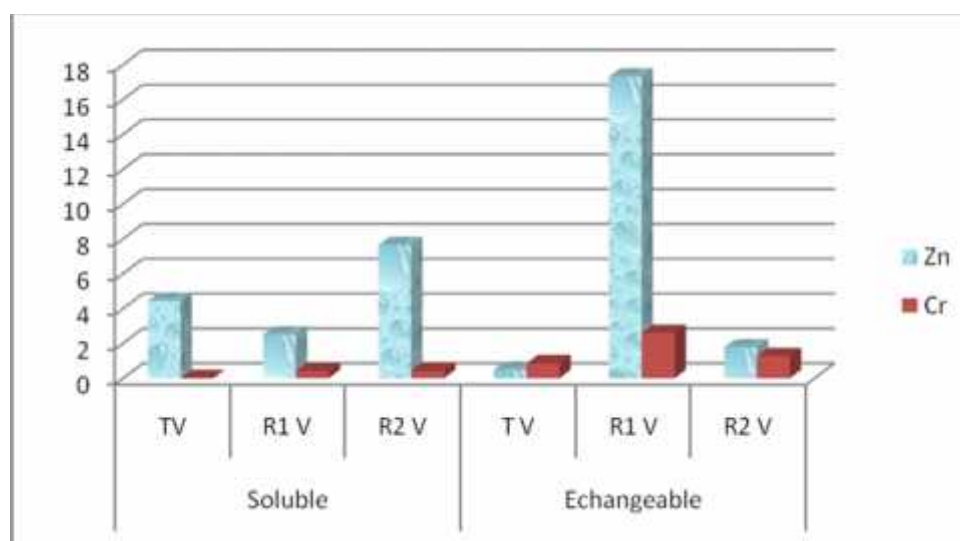


Figure VI.9 : Métaux lourds dans les tissus végétaux du gazon

Les teneurs des métaux lourds dans la tomate industrielle sont les suivantes :

Tableau VI.14 : Les teneurs des métaux lourds dans la tomate industrielle en mg/kg

Formes	Pots	Zn	Cr
Soluble	TV	0.15	0.498
	R1V	1.61	0.86
	R2V	0.95	0.98
Echangeable	TV	2.31	0.00
	R1V	15.97	0.36
	R2V	27.68	1.24

Les résultats obtenus sont illustrés sur la figure VI.10:

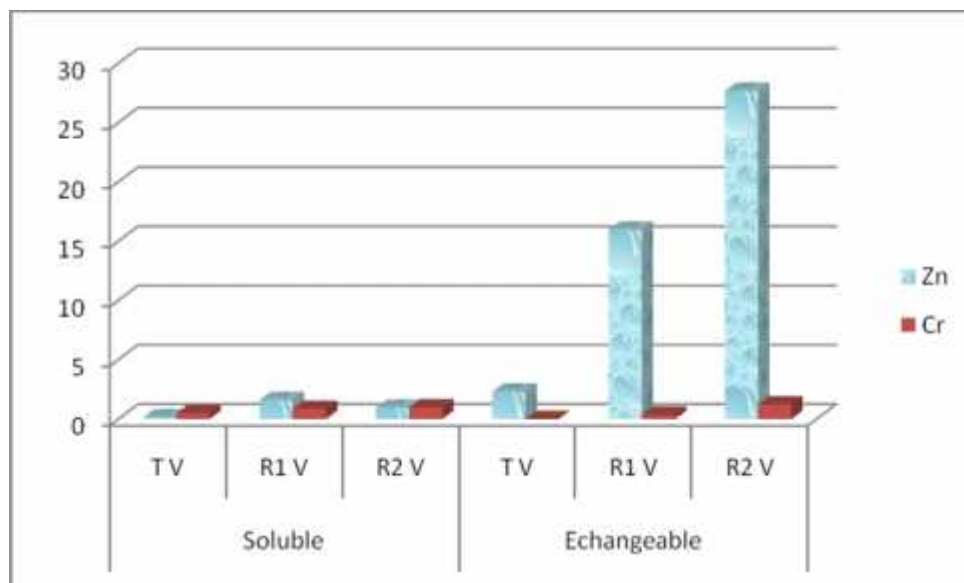


Figure VI.10 : Métaux lourds dans les tissus végétaux de la tomate industrielle
Discussion

En observant les résultats obtenus des teneurs en métaux lourds dans les plantes (gazon et tomate industrielle) (figure VI.9etVI.10), on remarque que la teneur en zinc dans les deux plantes est bien supérieure à celle du chrome. En effet les teneurs en chrome dans le gazon et dans la tomate industrielle sont très faibles et même parfois nulles. Les teneurs en métaux lourds déterminées dans les deux sols (témoin et pollué) avant et après expérimentation sont

représentées dans les tableaux de VI. 15, à VI. 16. Les résultats sont sur les figures allant de VI .11 à VI. 18

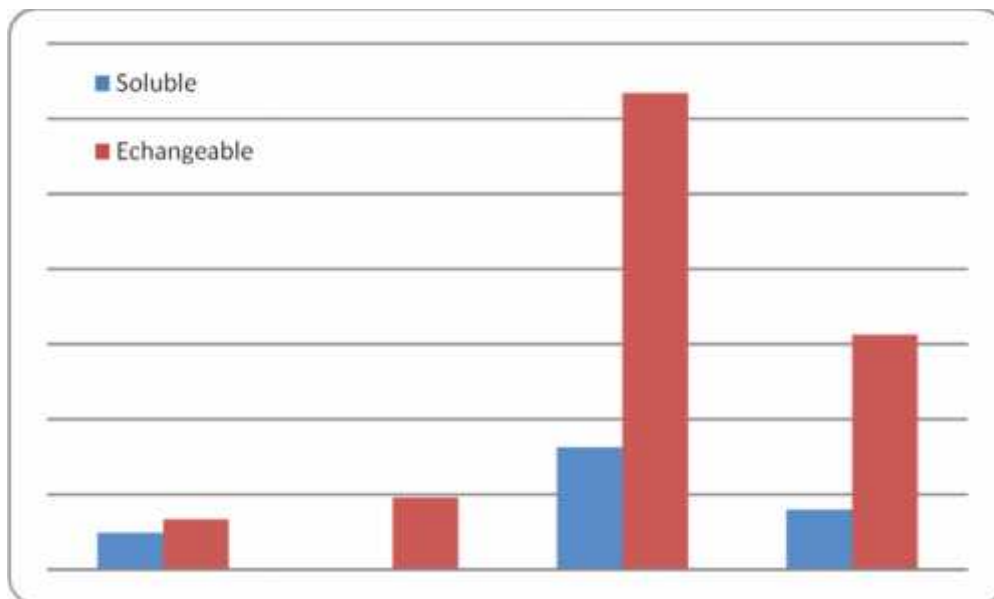
Tableau VI.15 : Teneurs en Zn dans le sol pollué et sol témoin avant et après expérimentation pour le gazon (mg/kg)

Rhizosphère Formes	Sol témoin(T)		Sol pollué(SP)	
	Avant	Après	Avant	Après
Soluble	9.742	0.34	32.58	15.98
Echangeable	13.34	19.20	126.85	62.52
Assimilable	23.08	20.93	159.159	78.5

La forme assimilable = la forme soluble + la forme échangeable.

Ces résultats sont schématisés dans l’histogramme suivant:

Figure VI .11: Teneurs en Zn dans le sol pollué et sol témoin avant et après expérimentation pour le gazon.



La somme des deux formes (soluble et échangeable) du Zn donne la forme assimilable avant et après expérimentation pour le gazon et est représentée dans l’histogramme ci-dessous :

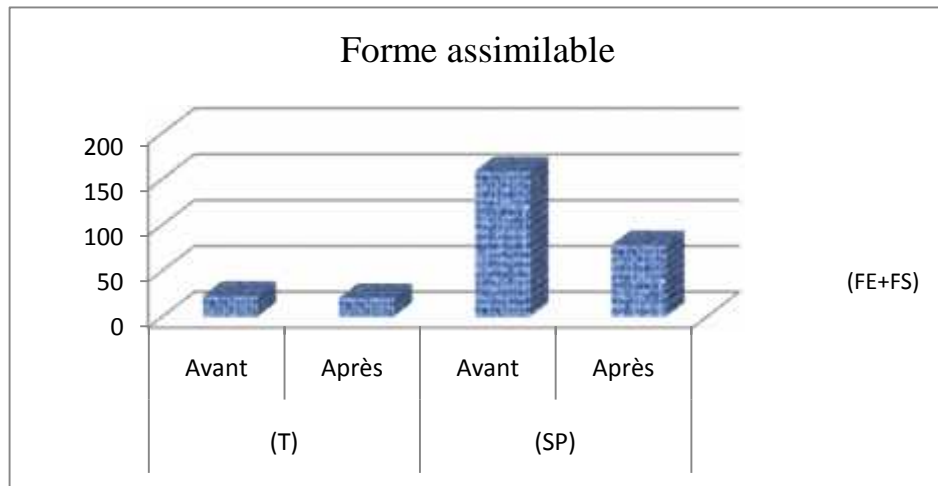


Figure VI .12: Teneur de la forme assimilable du Zn pour le Gazon.

Tableau VI .16 : Teneurs en Cr dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour le gazon (mg/kg)

Rhizosphère	Sol témoin (T)		Sol pollué (SP)	
	Avant	Après	Avant	Après
Soluble	0.58	0.00	3.47	0.40
Echangeable	0	1.03	6.41	2.19
assimilable	0,58	1,03	9,88	2,59

Ces résultats sont illustrés sur l’histogramme suivant :

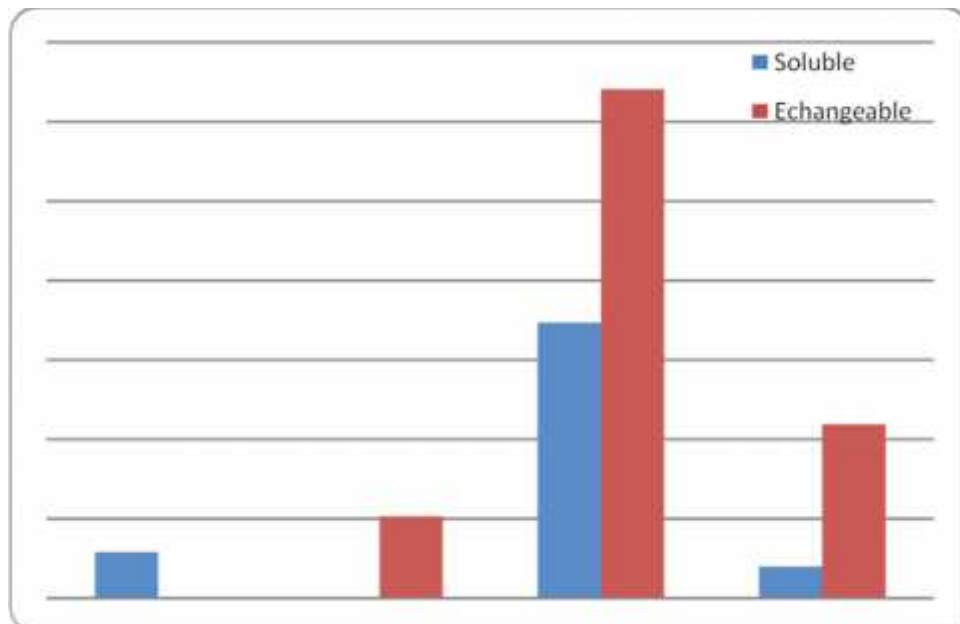


Figure VI .13: Teneurs en Cr dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour le gazon.

La somme des deux formes du Cr dans les deux sols (pollué et non pollué) pour le gazon donne le forme assimilable.

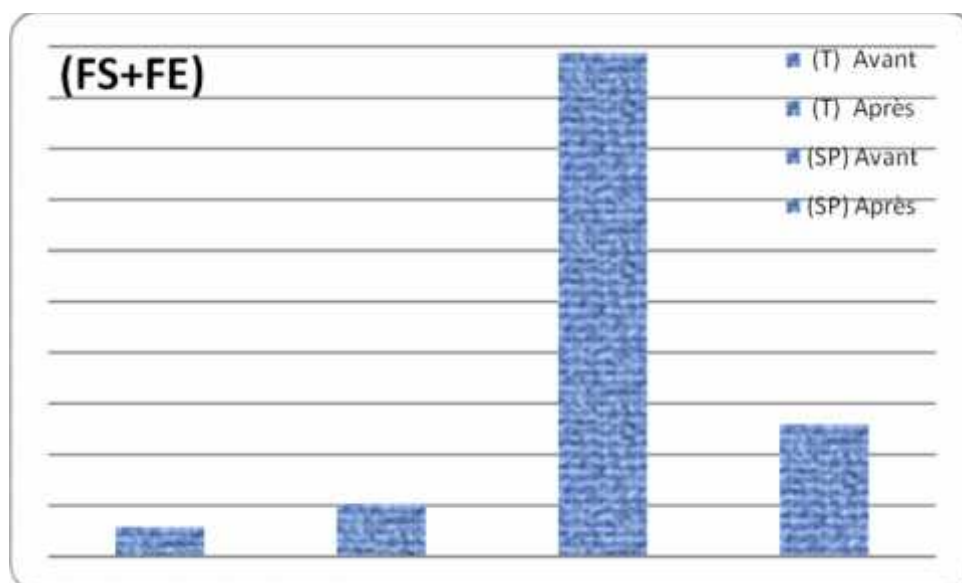


Figure VI .14: Teneur de la forme assimilable du Cr pour le gazon

Tableau VI. 17 : Teneurs en Zn dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour la tomate industrielle (mg/kg)

Rhizosphère	Sol témoin (T)		Sol pollué (SP)	
	Avant	Après	Avant	Après
Soluble	14.208	0.274	31.7	15.98
Echangeable	2.85	10.20	173.74	62.52
Assimilable	17.06	19.474	205.44	78.5

Ces résultats sont schématisés dans l'histogramme suivant :

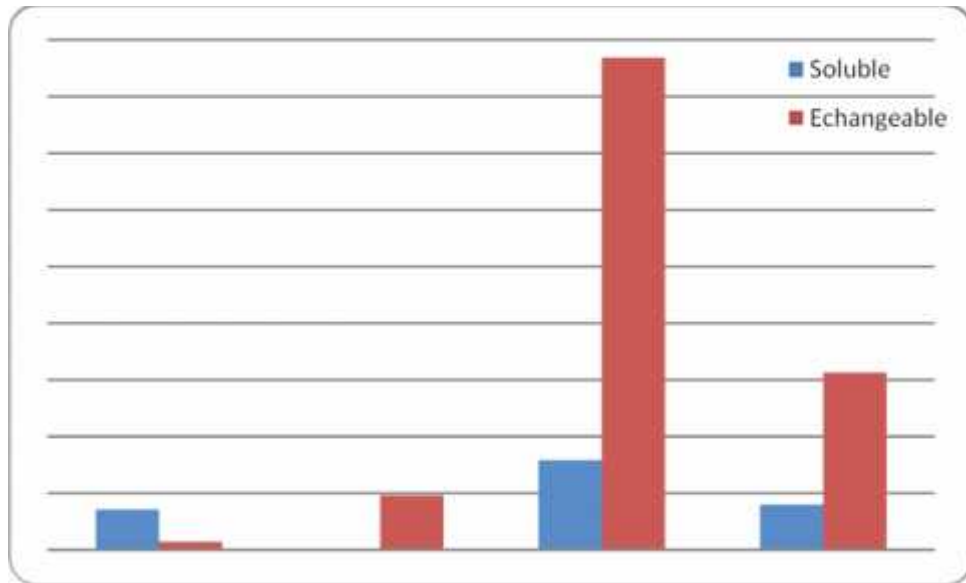


Figure VI .15 : Teneurs en Zn dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour la tomate industrielle

La somme des deux formes c'est à dire la forme assimilable du Zn dans le sol pollué et non pollué avant et après expérimentation est représentée dans la figure VI.21:

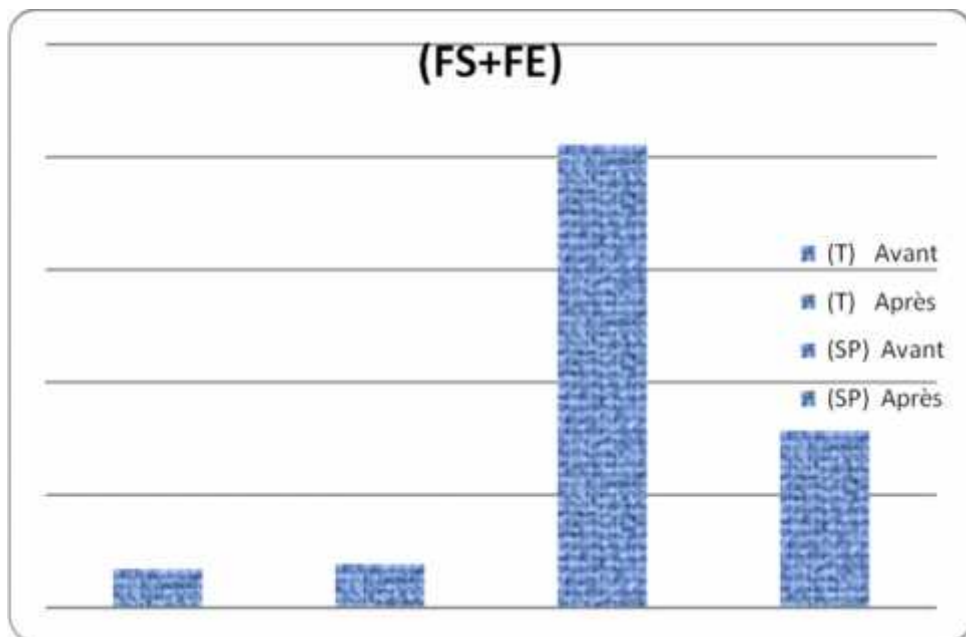


Figure VI .16 : Teneur de la forme assimilable du Zn pour la tomate industrielle

Tableau VI.18 : Teneurs en Cr dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour la tomate industrielle (mg/kg).

Rhizosphère	Sol témoin (T)		Sol pollué (SP)	
	Avant	Après	Avant	Après
Soluble	3.9	ND	5.28	0.40
Echangeable	1.41	1.03	1.75	2.19
Assimilable.	4.31	1.03	7.04	2.59

Ces résultats sont illustrés dans l’histogramme suivant :

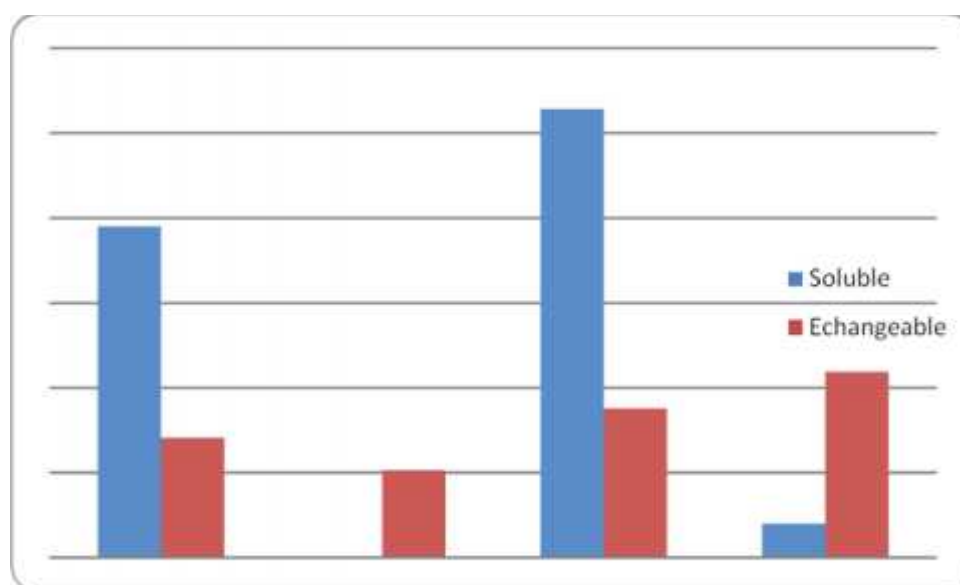


Figure VI .17 : Teneurs en Cr dans le sol pollué et le sol témoin avant et après expérimentation pour la tomate industrielle.

La somme des deux formes donne la forme assimilable du Cr (figure VI .23):

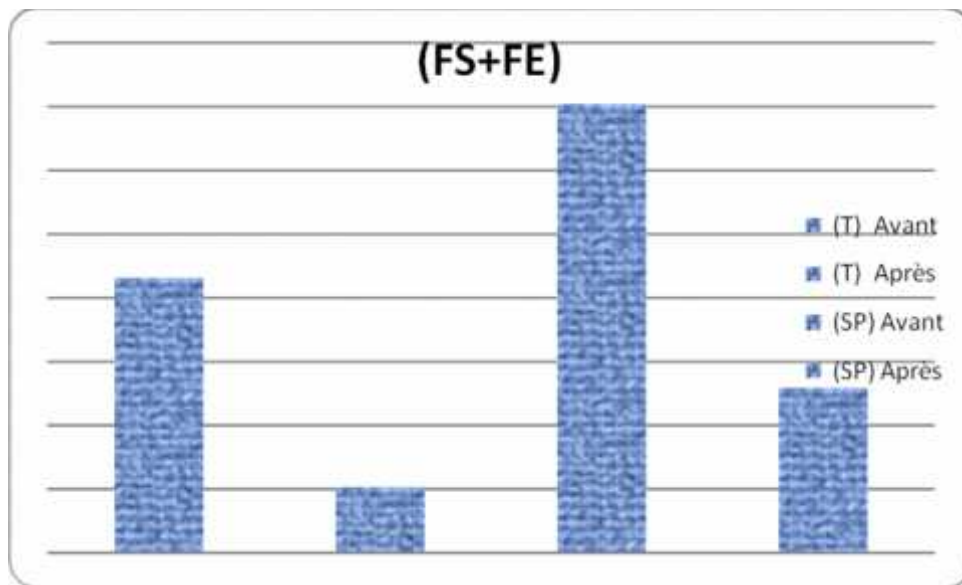


Figure VI .18: Teneur de la forme assimilable du Cr pour la tomate industrielle

Discussion

Les figures (VI.11, VI.13, VI.15, VI.17) montrent les résultats des teneurs en Zn et en Cr dans les sols (non pollué et pollué), ces histogrammes sont presque homogènes. On constate que la forme soluble est la forme la plus phytodisponible pour la plante, ce qui explique la diminution des teneurs soluble du Zn et du Cr dans les deux sols après expérimentation. Par contre les teneurs en Zn et en Cr sous la forme échangeable ont augmenté, cela s'explique par le fait qu'on observe chez les plantes, une sélectivité pour l'absorption des ions et pour le maintien de la concentration de ces ions (**Horst ,1998**). Dans le complexe argilo-humique, les ions sont fortement liés : il y a compétition entre la plante et le complexe ionique pour capter des ions, d'où une dépense d'énergie par le végétal. Dans le cas de notre étude la forme échangeable a été fortement retenue par le complexe argilo-humique (**Sposito1989;Shallari, 1997 ; Horst ,1998**). Les figures (VI. 12, VI.14, VI.16VI.18) montrent que les teneurs de la forme assimilable en Zn et en Cr ont diminué après expérimentation, et donc on a obtenu la dépollution du sol urbain par le gazon et la tomate industrielle.

Dans cette partie d'étude, on a essayé de dépolluer un sol urbain contaminé par les métaux lourds en utilisant une méthode biologique « Phytoremediation », on a utilisé deux plantes : le gazon : (*Stenotaphrum americanum*) et la tomate industrielle (*Lycopersicum esculentum*) , cette dernière n'est pas répertoriée dans la liste des plantes hyper-accumulatrices. Ces plantes ont été semées dans des pots de 2Kg sur un sol pollué de Béni Messous, et un autre non pollué (témoin) de Staouali. On a utilisé 6 pots, 3 pots pour chaque plante (un témoin et deux répétitions R1 et R2 pour le sol pollué). Les pots ont été irrigués régulièrement. Après la récolte, les analyses d'extraction ont été faites pour les deux formes : soluble et échangeable selon le protocole détaillé dans le chapitre V. Les solutions d'extraction ont été ensuite dosées au SAA.

Les résultats du dosage des métaux lourds (Zn, Cr) ont montré que les deux sols sont peu pollués en chrome et en zinc, bien que le sol pollué soit situé dans une zone urbaine soumise à la pollution, ceci s'explique par le fait que la texture du sol est sablo-limoneuse. Les résultats obtenus ont montré une diminution de la teneur en Cr et en Zn dans les deux sols après utilisation de la phytoextraction. Donc, on peut conclure que les 2 plantes sont hyper-accumulatrices pour le chrome et le zinc.

Conclusion et perspectives

L'objectif de cette étude est de dépolluer un sol contaminé par les métaux lourds ou ETM, par des voies biologiques en utilisant la bioremediation et la phytoremediation.

D'après les résultats obtenus concernant la bioremediation, les micro-organismes ont une aptitude à mobiliser le Zn du sol et ne cèdent qu'une partie minime dans la solution du sol. Donc à partir de ces résultats, nous avons pu mettre en relief le rôle des micro-organismes dans la biorémediation des sols contaminés par les métaux lourds.

Pour la phytoremediation nous avons étudié l'effet de l'augmentation des concentrations du Zn sur le développement des paramètres morphologiques du colza. Notre étude expérimentale s'est effectuée dans des pots de 250g et avec un sol (mélange 1/3 terreau, 2/3sol) issu de la station expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA). Le dispositif expérimental choisi est le bloc aléatoire complet, où on a utilisé 6 doses de Zn, avec 5 blocs et 2 répétitions. Les résultats physico-chimiques du sol ont montré que ce sol a une texture limoneuse, calcaire, non salin, à pH légèrement alcalin, avec une teneur élevée en matière organique et des teneurs moyennes en phosphore et en potassium échangeables. Les principaux résultats obtenus concernent les cinq paramètres étudiés à savoir : la hauteur des tiges (cm), la longueur des racines (cm), le nombre des feuilles, le rendement en poids frais (g /pot), et le rendement en poids sec (g /pot). Ces résultats montrent que les valeurs obtenus à une concentration Zn_5 sont en général, plus élevées par rapport à ceux obtenus aux autres concentrations. On a remarqué que l'augmentation des concentrations du Zn dans le sol, elle a un effet significatif et positif sur les paramètres étudiés du colza et que cet effet n'est apparu qu'après un cycle du développement de trois mois. Ces résultats peuvent être justifiés par le fait que le colza a pris un temps pour l'homogénéisation de la nutrition minérale et que cette plante est apte à développer certains mécanismes pour tolérer des concentrations élevées du zinc.

Concernant la dépollution d'un sol urbain contaminé par les métaux lourds (Zn et Cr), on a utilisé le gazon (*Stenotaphrum americanum*) et la tomate industrielle (*Lycopersicum esculentum*). Ces plantes ont été semées dans des pots de 2Kg sur un sol pollué de Béni Messous, et un autre non pollué (témoin) de Staouali. Le sol pollué est un sol urbain, ayant subi de la pollution issue de deux sources différentes : le trafic routier et une ancienne usine de fabrication de citernes. Le deuxième sol « témoin » est loin de toute source de pollution. Le sol témoin est de texture argilo-sableuse et le sol urbain est de texture sablo-limoneuse.

Ils sont pauvres en matière organique, et leurs pH sont respectivement, alcalin à légèrement alcalin.

L'analyse des métaux lourds contenus par ces sols ont montré que les deux sols sont peu pollués en Zn et en Cr. Toutefois, on a obtenu une diminution de la teneur des métaux lourds, après la dépollution par le gazon et la tomate industrielle. On peut conclure que les deux plantes sont hyper-accumulatrices pour le chrome et le zinc. Notons que la tomate industrielle n'est pas répertoriée comme plante hyper-accumulatrice.

La technique de la dépollution du sol par voie biologique est une technique récente, qui s'intègre dans le développement durable. De cette recherche il en ressort que les plantes suivantes : le colza, le gazon et la tomate industrielle sont des plantes hyper-accumulatrices vis-à-vis du zinc et du chrome, et que les micro-organismes du sol ont la capacité de dépolluer un sol contaminé par le zinc. Le seul inconvénient de la dépollution du sol par voie biologique c'est qu'elle nécessite beaucoup de temps.

Cette étude doit être complétée par un essai sur terrain, en utilisant comme culture le colza.

Le sol doit être analysé en chaque point (métaux totaux et métaux assimilables) et la plante du colza sera analysée pour les mêmes éléments régulièrement au cours du cycle de végétation ; suivie d'une étude technico-économique de la phytoremediation.

Adriano.D.C.,2001.: Trace elements in terrestrial environments, Biochemistry,bioavailability and risks of metals. Springer-Verlag, New York, 866p.

AFNOR, 1994. : Qualité des sols- Méthodes d'analyse. Recueil de normes françaises. Association Française de Normalisation, Paris, 135p.

Alloway, B. J. 1995: Soil processes and the behaviour of metals. In Heavy metals in soils. Black Academic and Professional, 368p.

Anonyme. (1999).Zinc Conseil canadien des ministres de l'environnement, Winnipeg, pp.1-7.

Amir H et AlabouvetteC, 1993: Involvement of soil abiotic factors in the mechanisms of soil suppressiveness to Fusarium wilts. Soil Biol.Biochem.25, pp.157-164.

Babich, H. and Stotzky, G. 1977b: Sensitivity of various bacteria, including actinomycetes and fungi to cadmium and the influence of pH on sensitivity. Appl. Environ. Microbiol, 33,pp.681-695.

Babich, H. et Stotzky, G. 1977b:.Sensitivity of various bacteria, including actinomycetes and fungi to cadmium and the influence of pH on sensitivity. Appl. Environ. Microbiol, 33, pp.681-695.

Babich, H. et Stotzky, G. 1977a: Effect of cadmium on fungi and on interactions between fungi and bacteria in soil: influence of clay minerals and pH. Appl. Environ. Microbiol. 33,pp. 1059-1066.

Babich, H. et Stotzky, G. 1980: Environmental factors that influence the toxicity of heavy metals and gaseous pollutants to microorganisms, Crit. Rev. Microbiol. 8, pp. 99-145.

Baize D, M. Tercé., 2002: Examen critique des valeurs limites « sols » de la réglementation française. In Les éléments traces métalliques dans les sols. Approches fonctionnelles et spatiales. INRA Edition, Paris, p 65.

Baize D., 2000:Teneurs totales en "métaux lourds" dans les sols français. Résultats généraux du programme ASPITET. Le Courrier de l'Environnement de l'INRA. 39, pp. 39-54.

Baize D., 1997: Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). INRA Editions, Paris, p 408.

Baker, A.J.M. et Walker, P.L. 1989: Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Heavy metal tolerance in plants - Evolutionary aspects. Shaw, A. (Eds). CRC Press, pp.155-177.

Baker, A.J.M., and Walker, P.L. 1990: Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Shaw, J. (Ed.). Heavy Metal Tolerance in plants: Evolutionary aspects. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp.155-178.

Baylock MJ, Salt DE, Dushenkov S, Zakharova O, and Gussman C, 1997: Enhanced accumulation of Plomb in indian mustard by soil applied chelating agents Environ. Sci. technol., pp. 860-865.

Belzile N., Lecomte P. and Tessier A. 1989: Testing read-sorption of trace elements during partial chemical extraction of bottom sediments. Environ. Sci. Technol.23,pp. 1015-1020.

Ben Ghnaya,A,Gilbert, C, Hourmant,A,Ben Hamida,J 2009: Physiological behaviour of four rapeseed cultivar (*Brassica napus L*)submitted of metal stress.CR. Biologie 332,pp. 363-370

Benjamin, M.M., J.O. Leckie, J.O. 1981: Conceptual model for metal-ligand-surface interactions during adsorption. Environmental Science & Technology, 15, pp. 1050-1057.

Bourrellier P.-H et Berthelin J., 1998: Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. Rapport N°42 de l'Académie des sciences. Ed. Lavoisier, Coll. Technique et Documentation, Paris., 440 p.

Brooks, R.R., 1998 : Biogeochemistry and hyperaccumulators. In: Brooks, R.R. (Ed.). Plants that hyperaccumulate heavy metals. Cabi Publishing Wallingford, pp.95-118.

BissonM., Diderich R. et Hulot C., 2005. Zinc et ses dérivés, INERIS, 69p.

Bruemmer, G.W., Gerth, J., Tiller, K.G. 1988: Reaction kinetics of the adsorption and desorption of nickel, zinc and cadmium by goethite: I. Adsorption and diffusion of metals. Journal of Soil Science, 39, pp. 37-52.

Calvet, R. 2003: Le Sol. Propriétés et fonctions (Tome 1). Dunod, Paris, p. 456.

CCME (Conseil canadien des ministres de l'environnement) ,1997: Recommandations canadiennes pour la qualité des sols, Winnipeg, Canada.

Chaignon V., 2001: Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse : Ecole doctorale, Sciences de l'Environnement : Système Terre, Université d'Aix-Marseille, 183p

Chaignon, V., Hinsinger, P., 2003: A biotest for evaluating copper bioavailability to plants in a contaminated soil. J Environ Qual. 32, pp.824-833.

Chanmugathas P. et Bollag J.M., 1987: Microbial role in immobilization and subsequent mobilization of cadmium in soil suspensions. Soil Sci. Soc. Am. J. 51: pp.1184-1191.

Christensen T.H. 1984: Cadmium soil sorption at low concentrations: I. Effect of time, cadmium load, pH and calcium. Water Air Soil Pollut. 21 :pp. 105-114.

Clement. M., 2003: Analyses chimiques des sols (Méthodes choisies). Tec et Doc édition, France. 387 p.

CNES (Conseil National Economique et Social.) ,1997: Commission de l'Aménagement de territoire et de l'environnement en Algérie ,80 P.

Colinet G., 2003: Éléments traces métalliques dans les sols. Contribution à la connaissance des déterminants de leur distribution spatiale en région limoneuse belge. Thèse de doctorat. Gembloux. Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, 416 p.

Cooper, E.M., Sims, J.T., Cunningham, S.D., Huang, J.W., Berti, W.R. 1999: Chelateassisted phytoextraction of lead from contaminated soil. Journal of Environmental Quality 28, pp. 1709-1719.

Cunningham, S.D., and W.R. Berti, and J.W. Huang.1995: Phytoremediation of contaminated soils. Trends Biotechnol. 13, pp. 393-397.

Dabouineau. L, Lamy. Y, Collas. Ph; 2005: Phytoremédiation et phytorestauration ou l'utilisation des plantes pour la dépollution et l'épuration des eaux usées. Vol. 124, pp:8-15, Université (U.C.O. Bretagne Nord).

Dahmane N., Latreche K., Sarmoum M: 2005: Bioaccumulation de trois métaux lourds (Pb, Zn, Cd) chez *Xanthoria parienta* dans la région Algéroise. Mémoire d'ingénieur. UTSHB. Bab Ezzouar. Alger. p48.

Davet P, 1999: Vie microbienne du sol et production végétale, Edition INRA Paris, p382.

Davis, J.A., Leckie, J.O. 1980: Surface ionisation and complexation at the oxide/water interface: III Adsorption of anions. Journal of Colloid and Interface Science, 74, pp. 32–43.

Deneux-Mustin, S., Roussel-Debet, S., Mustin, C., Henner, P., Munier-Lamy, C., Colle, C., Berthelin, J., Garnier-Laplace, J., Leyval, C. 2003: Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces: influence des micro-organismes du sol. TEC & DOC, Paris, 282p

Deschamps T., 2006: Mécanismes de rétention des métaux lourds en phase solide : cas de la stabilisation des sols contaminés et des déchets industriels, 11p.

Dunnivant, F.M., Jardine, P.M., Taylor, D.C., McCarthy, J.F. 1992b : Cotransport of cadmium and hexachlorobiphenyl by dissolved organic carbon through columns containing aquifer material. Environmental Science Technology, 26, pp. 360-368.

Evans L.J.1989: Chemistry of metal retention by soils. Environmental Science and Technology, Vol.23 (9), pp.1046-1056.

Foy, C.D., Chaney R.L. and White, M.C. 1978: The physiology of metal toxicity in plants, Rev. Plant Physiol. 29, pp.511-566.

Gad GM et Griffiths AJ, 1978: Microorganisms and heavy metal toxicity. *Microb.Ecol.*4, pp. 303-317.

Gadd, J.M. 2000: Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. Raskin. I and Ensley. B.D., John Wiley et Sons, Inc, New York, p304.

Giller, E., K., Witter, Ernst. and McGrath, P.S. 1998: Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils. *Soil. Biol. Biochem.* 30, pp.1389-1414.

Girard M, C ; Walter C ; Remy J.C ; Berthelin J ; Morel J.L ; 2005 : Sol et environnement. Dunod. Edition. Paris, pp, 276-409.

Godin, P. M.; Feinberg, M.H.; Ducauze, C.J. 1985: Modeling of soil contamination by airborne lead and cadmium around several emission sources. *Environ. pollut.* 10, pp: 97-114

Hattori T et Hattorie R, 1976: The physical environment in soil microbiology : an attempt to extend principles of microbiology to soil microorganisms. *CRC Crit.Rev.Microbiol.*4, pp.423-461.

Hepper C.M et Smith G.A, 1976 : Observations on the germination of *Endogone* spores. *Trans. Br.mycol.Soc.*66, pp.189-194.

Hirsh P.R, Jones M.J., MC- Grath S.P et Giller K.E.1993: Heavy metals from past applications of sewage sludge decrease the genetic diversity of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* populations. *Soil Biol.Biochem.*25, pp.1485-1490

Horst M., 1998: Mineral nutrition of Higher plants, second edition Academic Press, London, 889p

Huang JWW, Chen JJ, Berti WR and Cunningham SD, 1997: Phytoremediation of lead-contaminated soils role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. technol.*,pp 800-805.

Huysman F et Verstraete W, 1993: Water-facilitated transport of bacteria in unsaturated soil columns : influence of cell hydrophobicity and soil properties. *Soil Biol.Biochem* 25,pp.83-90.

Jean L., Bordas F., Bollinger J.-C., 2007a: Chromium and nickel mobilization, *J. Sci. Food Agr.* 37, pp.961-968.

Juste C., Chassin P. and Gomez A., 1995: Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduaires des stations d'épuration urbaines, Ademe-INRA, 208pp.

Kabata-Pendias, A., Pendias.H., 1992 : Trace elements in soils and plants. 2^{em}éd. CRC Press.Boca Raton, FL.

- Kabata-Pendias, A. et Pendias, H. 2001:** Trace elements in soils and plants. CRC Press, London, 534p
- Khebohian .C, Bauer. C F. 1987:** Accuracy of Selective Extraction Procedures for Metal Speciation in Model Aquatic Sediment. *Anal. Chemistry*. 59, pp. 1417-1423.
- Khettabi. H., 2002.** : Intérêts de l'étude des paramètres hydrogéologiques et hydrologique pour la compréhension du fonctionnement de la station de traitement de lixiviats de la décharge d'ordures ménagères d'Étuefont Belfort, France. Thèse doctorat, 3^{ème} cycle, 167p.
- Ko W.H et Hora F.K , 1972 :** Identification of an Al ion as a soil fungitoxin. *Soil Sci.*113, pp. 42-45
- Kobayashi N et Ko W.H, 1985:** Nature of supression of *Rhizoctonia solani* in Hawaiian soils. *Trans.Br.mycol.soc.*84, pp.691-694.
- Lamari A, 2003:** Effet de l'interaction salinité- phosphore sur la nutrition minérale du sorgho (*Surghum Vulgar Var Rocket*), thèse Ing. INA El Harrach, 60P.
- Lamy, I. 2002:** Réactivité des matières organiques des sols vis-à-vis des métaux. Journées nationales de l'étude des sols, 22.p
- Lasat M.M.,2000 :** Phytoextraction of metal from contaminated soil: a review of plants / soil / metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues, *Journal of Hazardous Substance Research*2,pp. 1-25.
- Lebourg A, Sterckeman T, Ciesielski H, Proix N., 1996 :** Intérêt de différents réactifs d'extractions chimiques pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux en traces du sol. *Agronomie*, 16, pp.201-215.
- Li, L.Y. et Li, R.S. 2000:** The role of clay minerals and effect of H⁺ ions on removal of heavy metal (Pb²⁺) from contaminated soil. *Can. J. Geotech/Rev.* 37, pp.296-307.
- Loué, A 1993 :** les oligo-éléments en agriculture. Agri Nathan international.2^{em}édition, 577p
- Maiz I, Esnaola MV, Millán E.1997:** Evaluation of heavy metal availability in contaminated soils by a short sequential extraction procedure. *Science of the Total Environment*. ; 206 (2-3),pp.107-115.
- Majone, M., Petrangeli Papini, M., Rolle, E. 1996:** Modeling Lead adsorption on clays by models with and without electrostatic terms, *The Journal of Colloid and Interface Science*, 179, pp. 412-425.

Marchiol , L., Assolari,S., Sacco, P. Zerbi ,G , 2004: Phytoextratcion of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and Radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil . Environmental Pollution 132, pp.21-27.

Martinez, C.E., McBride, M.B. 1998: Solubility of Cd²⁺, Cu²⁺, Pb²⁺, and Zn²⁺ in aged co precipitates with amorphous iron hydroxides. Environmental Science & Technology, 32, pp. 743-748.

McBride M.B.1989: Reactions controlling heavy metal solubility in soils. In Advances in soil science, Edition Springer-Verlag, pp. 1-56.

McGrath, S.P. 1998: Phytoextraction for soil remediation. In R.R. Brooks (ed.) Plants that hyper accumulate heavy metals.CAB Int., Wallingford, UK, pp.261-287.

Mei B., Puryear J.D., Newton R.J., 2002: Assessment of Cr tolerance and accumulation inselected plant species,Plant and Soil 247, pp.223-231.

Morel J.L., Bitton G., Schwartz C. & Schiavon M., 1996: Bioremediation of soils and waters contaminated by micropollutants : which role for plants ? In : Ecotoxicology : response, biomarkers and risks assessment, Chapter 4, OECD Workshop. Zelikoff J.T. (ed). SOS Publications, Fair Haven, N.J. USA, pp.37-74.

OFEFP, 1996 : Sols pollués –métaux lourds et plantes bio indicatrices-. Documents Environnement n°58, sol, Berne, Suisse.

Orchard VA et Cook F.J, 1983: Relationship between soil respiration and soil moisture. Soil Biol.Biochem.15, pp.447-453.

Pichard A, Bisson M, Diderich R, Hulot C, Houeix N, Lacroig-Leveque S, MorinA; 2005: Zinc et ces dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques INERIS, pp. 6-9-14-15.

Quevauviller p.; Rauret G., Lopez- Sanchez JF. , Rubio R.,Ure A, Muntau H.,1997: Certification of trace metal extractable contents in a sediment reference material (CRM 601) following a three step sequential extraction procedure. The Science of the total Environment , 205 ; pp.223-234.

Ramade F., 2005: Eléments d'écologie: écologie appliquée. Paris, Dunod, 6^{ème} édition, 864p

Raskin, I, Kumar, N.P.B.A, Dushenkov, S., Salt, D.E. 1994: Bioconcentration of heavy metal by plant. Current Opinion in biotechnology 5, pp.285-290.

Remon E., 2006 : Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgique : vers de nouvelles méthodes de bio dépollution. Thèse de doctorat, université Jean Monnet, France .166p .

- Robert M. 1996:** Le sol: Interface dans l'environnement, ressource pour le développement. Science de l'Environnement. Masson, Paris, pp. 8-20.
- Ross, S. M. 1995:** Retention, transformation and mobility of toxic metals in soils. In: Toxic metals in soil-plant systems. S. M. R. editor, pp 63-152.
- Rosenberg E, 1993:** Microorganisms to combat pollution .ED Kluwer Academic publishers.280p
- Salt, D.E, Blaylock, M., Kumar, N.P.B.A, Dushenkov, S., Ensley, B.D., Chet, I., Raskin, I. 1995:** Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. Biotechnology 5, pp.285-290.
- Salt, D.E., Smith, R.D. and Raskin, I. 1998:** Phytoremediation. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49, pp.643-68.
- Sanders, J.R., 1983:** The effect of pH on the total and free ionic concentrations of manganese, zinc and cobalt in soil solutions. J. Soil Sci. 34, pp.315-323.
- Sanders, J.R., McGrath, S.P. and Adams, T.M. 1986:** Zinc, copper and nickel concentrations in ryegrass grown on sludge-contaminated soils of different pH. Journal of the Science of Food and Agriculture 37, pp.961-968.
- Schneider A, 1989:** Comportement des oligo-éléments dans le sol, mobilité et carences. Perspectives Agricoles, 134;pp 32-47.
- Shallari, S. 1997:** Disponibilité du nickel du sol pour l'hyperaccumulateur *Alyssum murale*. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France ,105p.
- Shuman,LM, 1985 :**Fractionation method for soil microelements.Soil Science.140,pp.11-22.
- Sigg, L., Stumm, W., Behra, P. 1992 :** Chimie des milieux aquatiques. Chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement.ed Masson, Paris, . 391p
- Singh B.R., Steinness E., 1994:**Soil and water contamination by heavy metals, In soil processus and water quality, Edition Lewis, pp.233-271.
- Sposito G., 1989:** The chemistry of soils. Edition Oxford university Press .New York, 277p.
- Sterckeman T.,2004:** Caractérisation du fond géochimique en éléments en traces dans les sols issus de roches sédimentaires du Nord de la France. Thèse, INPL, Nancy , 250p
- Stotzky G, 1980 :** Surface interactions between clay minerals and microbes, viruses and soluble organics, and the probable importance of these interactions to the ecology of microbes in soil.In Microbial adhesion to surfaces, R.C.W.Berkley, J.M.Lynch, J.Melling, P.R.Ruter etB Vincent Ed.,Ellis,Horwood,pp.231-247.

Száková, J., Tlustoš, P., Balík, J., Pavlíková, D., Van k, V., 1999: The sequential analytical procedure as a tool for evaluation of As, Cd and Zn mobility in soil. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* , Volume 363, pp 594-595.

Tack F.M., Verloo M.G. 1995 : Chemical speciation and fractionation in soil and sediment heavy metal analysis: a review. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 59,pp. 225-238.

Temminghoff, E.J.M., van der Zee, S.E.A.T.M., de Haan, F.A.M. 1997: Copper mobility in a copper-contaminated sandy soil as affected by pH and solid and dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*, 31, pp. 1109-1115.

Tessier A., Campbell P.G.C.; Bisson M. 1979: Sequential extraction procedure for the speciation of particulate metals. *Analytical Chemistry* 51(7), pp.844-851.

Tonneau. J, 2003: D'un bout à l'autre de la chaîne, printemps des sciences, 10p.

Tran T.S., M. Giroux, P. Audesse et J. Guilbault. 1995: Importance des oligo-éléments en agriculture : symptômes visuels de carence, analyses des végétaux et des sols. *Agrosol*, Vo. 8 (1):pp.12-22.

Tremel-Schaub A et Feix I, 2005: Contamination des sols : transfert des sols vers les plantes.EDP Sciences. Ademe Edition. France, 413p.

Ure A.M., Quevauviller P., Muntau H., Griepink B., 1993: Improvements in the determination of extractable contents of trace metals in soil and sediment prior to 220 certification, Commission of the European Communities-BCR information, EUR 14763 EN, Brussels, 84 p.

Uzu G, 2009 : Spéciation, transfert vers les végétaux et approche toxicologique des émissions atmosphériques d'une usine de recyclage de plomb Thèse Doctorat , Institut National Polytechnique de Toulouse France, 214p.

Wenzel,W.W.2009 : Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. *Plant and Soil*, pp.385-408.

Yong, R.N., Mohamed A.M.O., Warkentin B.P. 1992: Principles of contaminant transport in soils. Elsevier, Amsterdam, p. 327.

Zheng, N., Wang, Q., Zheng, D., 2007: Health risk of Hg, Pb, Cd, Zn, and Cu to the inhabitants around Huludao Zinc Plant in China via consumption of vegetables. *Science of The Total Environment* 383,pp. 81-89.

Wu,J, West, L.J. , D.I.Stewart 2002: Effet of Humic substances on Cu (II) solubility in kaolin-sand soil, *J. Journal of Hazardous Materials*, 94, pp. 223-238.

Annexe .1 : Normes admises

1. L'arrêté du 08 .01 .1998 (AFNOR) :

Eléments trace métallique		Valeur limite en mg /kg de MS (ou ppm)
Cadmium	Cd	2
Chrome	Cr	150
Cuivre	Cu	100
Mercure	Hg	1
Nickel	Ni	50
Plomb	Pb	100
Sélénium	Se	10
Zinc	Zn	300

2. Calcaire totale : (AFNOR, 1994)

Taux de CaCO ₃ totale	Qualification du sol
CaCO ₃ 5%	Sol non calcaire
5 % < CaCO ₃ 12,5%	Sol faiblement calcaire
12,5 % < CaCO ₃ 25%	Sol modérément calcaire
25 % < CaCO ₃ 50%	Sol fortement calcaire
CaCO ₃ > 50%	Sol très fortement calcaire

3. pH : (AFNOR, 1994)

Valeur du pH	Statut acido-basique
pH 5,5	Sol très acide
5,5 < pH < 6,0	Sol acide
6,0 < pH < 6,5	Sol peu acide
6,5 < pH < 7,0	Sol neutre
7,0 < pH < 7,5	Sol peu alcalin (peu basique)
pH > 7,5	Sol alcalin (basique)

4. CE : (CLEMENT, 2003)

Valeur de la CE dS/m	Niveau de salinité
CE < 0,3	Non salé
0,3 < CE < 0,6	Légèrement salé
0,6 < CE < 1	Salé
1 < CE < 2	Très salé
CE > 2	Extrêmement salé

5. Phosphore : (AFNOR, 1994)

Valeur du phosphore en mg/kg	Niveau
$P_2O_5 < 13,5$	Très faible
$13,5 < P_2O_5 < 27$	Faible au pauvre
$27 < P_2O_5 < 54$	Moyenne
$54 < P_2O_5 < 81$	Riche
$P_2O_5 > 81$	Très riche

Annexe. 2**Calcul de la quantité du nitrate de Zinc qui correspond à 450ppm :**

Lorsque on a utilisé le nitrate de Zinc la forme la plus stable chimiquement dans notre expérimentation, il fallait calculer la quantité de $ZnNO_3$ qui correspond a 450ppm de Zinc.

On a la masse molaire de:

$$Zn = 65,37 \text{ g/l}$$

$$ZnNO_3 = 127,38 \text{ g/l}$$

$$450 \text{ ppm Zn} \longrightarrow 450 \text{ mg Zn}$$

$$450 \text{ mg Zn} \longrightarrow 10^3 \text{ g sol}$$

$$X \text{ mg Zn} \longrightarrow 10 \text{ g sol}$$

$$X \text{ mg Zn} = (450 \text{ mg Zn} \times 10 \text{ g sol}) / 10^3 \text{ g sol}$$

$$X \text{ mg Zn} = 4,5 \text{ mg Zn}$$

Pour provoquer une concentration de Zinc de l'ordre de 450ppm, il faut une quantité de Zn égale à 4,5mg, et lorsqu' on a utilisé le nitrate de Zinc ($ZnNO_3$) la quantité utilisé est exprimée de la manière suivante :

$$65,37 \text{ g/l Zn} \longrightarrow 127,38 \text{ g/l ZnNO}_3$$

$$4,5 \text{ mg Zn} \longrightarrow y$$

$$y = (4,5 \text{ mg Zn} \times 127,38 \text{ g/l ZnNO}_3) / 65,37 \text{ g/l Zn}$$

$$y = 8,8 \text{ mg.}$$

Donc la quantité de $ZnNO_3$ à apporter par 10g sol est égale à 0,088g

Annexe. 3

1. Caractéristiques du sol pollué prélevé au niveau de Beni messous :

Caractéristiques de sol		Résultats
Calcaire total(%)		17,23
CE ds/m		0,67
pH		8,20
P ₂ O ₅ échangeable (mg/kg)		6,07
Caractères biochimiques	MO (%)	0,70
	N _{total} %	0,20
Complexe adsorbant Cmol+/kg de sol	Ca ⁺⁺	3.60
	Mg ⁺⁺	1.60
	K ⁺	0.10
	Na ⁺	0.80
	CEC	6.30
Granulométrie%	Argile	1.30
	Limon fin	3.10
	Limon grossier	3.12
	Sable fin	39.40
	Sable grossier	53.10
	Classe texturale(USDA)	Sableux

2. Caractéristiques du sol témoin prélevé au niveau de Staouali :

Caractéristiques de sol		Résultats
Hr%		3,82
Calcaire total(%)		0
CE ds/m		0,47
pH		7,41
P ₂ O ₅ assimilable (ppm)		19,37
Caractères biochimiques	MO (%)	0,65
	N _{total} %	0,04
Complexe adsorbant Cmol+ /kg de sol	Ca ⁺⁺	4,35
	Mg ⁺⁺	2,97
	K ⁺	0,29
	Na ⁺	0,98
	CEC	11,05
Granulométrie %	Argile	27,31
	Limon fin	10,22
	Limon grossier	20,15
	Sable fin	21
	Sable grossier	41,08
	Classe texturale(USDA)	argilo-sableuse