



Master Sciences et Techniques : Hydrologie de Surface et Qualité des Eaux

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**EFFET DES EXTRAITS A L'EAU DE DEUX ALGUES MARINES  
*FUCUS SPIRALIS* ET *ENTEROMORPHA INTESTINALIS* SUR LE  
NOMBRE DE BACTERIES, LA RESPIRATION ET L'ACTIVITE  
DES DESHYDROGENASES DANS LES SOLS**

**Présenté par:**

**AMAL LOQMAN**

**Encadré par:**

- Prof Ali BOULARBAH (FSTMG)
- Prof. Saâd RACHIQ (FSTF)

**Soutenu Le 28 Juin 2011 devant le jury:**

**K.MIKOU : PES à la FST Fès**  
**N.GHACHTOULI : PES à la FST Fès**

**Année Universitaire : 2010-2011**

Stage effectué à : Faculté Sciences et Techniques Marrakech



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**Nom et prénom: LOQMAN Amal**

**Année Universitaire : 20010/2011**

**Titre: EFFET DES EXTRAITS A L'EAU DE DEUX ALGUES MARINES *FUCUS SPIRALIS* ET *ENTEROMORPHA INTESTINALIS* SUR LE NOMBRE DE BACTERIES, LA RESPIRATION ET L'ACTIVITE DES DESHYDROGENASES DANS LES SOLS**

### **Résumé**

Le problème de l'appauvrissement des sols par l'agriculture intensive et par l'abus d'utilisation des fertilisants chimiques est aujourd'hui un des problèmes majeurs car cela peut conduire à terme à la destruction de cette ressource non renouvelable.

Le présent travail consiste à évaluer la faisabilité d'utiliser des extraits algaux des deux espèces *Fucus spiralis* et *Enteromorpha intestinalis* à des concentrations [10%] et [50%] comme fertilisants pour la terre agricole et pour le sol (M1) constitué d'un mélange de la terre agricole et d'un déchet de la mine de Kettara à des proportions de ( $\frac{1}{2}$  :  $\frac{1}{2}$ ). L'effet de ces extraits sur la croissance des microorganismes, l'activité respiratoire, l'activité des déshydrogénases dans ces sols a été déterminée. Nous avons également déterminé l'effet de ces mêmes extraits sur la germination des graines de l'orge dans des sols pollués ou non par les métaux lourds.

La comparaison de la croissance des microorganismes dans les terres traitées et non traitées avec les extraits algaux montre l'effet positif de ces extraits sur la biomasse microbienne dans le sol agricole et dans le mélange M1 amendé par *Fucus spiralis* et *Enteromorpha intestinalis* à une concentration de [50%]. Cet effet varie en fonction du type de sol et de la durée d'incubation.

L'effet de ces deux extraits sur l'activité respiratoire du sol agricole et le sol M1 a montré qu'il y a une différence hautement significative par rapport aux témoins. L'analyse statistique montre une différence significative des valeurs de l'activité des déshydrogénases dans les terres traitées et non traitées avec ces extraits algaux.

L'ensemble de ces résultats ainsi ceux obtenus par le test de germination, nous permet de conclure que les extraits algaux préparés à partir de l'espèce *Fucus spiralis* (à une concentration de [10%] et [50%]) et *Enteromorpha intestinalis* [10%]) interviennent dans l'amélioration des



caractéristiques agronomiques des sols étudiés et permettent une meilleur germination des graines d'orge.

Mots clés : Sol, amendements algaux, fertilité, fonctionnement biologique, minéralisation du carbone, déshydrogénase, germination.

.

# *Sommaire*

<b>Introduction générale</b>	2
<b>I. sol</b>	4
1. Définition	4
2. Source de pollution	4
3. Les métaux lourds	6
3.1 Définition des « métaux lourds »	6
3.2 Origine des métaux lourds	6
3.3 Les métaux lourds : oligoéléments ou éléments toxiques	7
3.4 Mobilité et biodisponibilité des métaux lourds	7
4. Problèmes liés aux métaux lourds	8
4.1 Effets toxiques sur l'homme	8
4.2 Effets toxiques sur les plantes	9
4.3 Effets toxiques sur les micro-organismes du sol	10
5. Voies de décontamination des sols pollués par les métaux lourds	11
6. Amélioration du sol par des amendements organiques et minéraux	11
<b>II. Les algues</b>	12
1. Généralités sur les algues	12
2. Classification et composition des algues	12
2.1. Les algues vertes (chlorobiontes)	13
2.2. Les algues rouges (Rhodobiontes)	13
2.3 Les algues brunes (chromobionte)	13
3. Utilisation des algues	14
3.1 Les Rhodobiontes	14
3.2 Les Chromobiontes	15
3.3 Les Chlorobiontes	15
<b>Matériels et méthodes</b>	
<b>I. Matériaux utilisés</b>	18
1. Déchet minier	18
2. Sol agricole	18
3. Algue	18

4. Echantillonnage	18
4.1 Sol	18
4.2 Algues	18
<b>II. Analyses chimiques du sol agricole et du déchet minier</b>	<b>20</b>
1. Mesure du pH des matériaux étudiés	20
2. Détermination de la teneur en carbone organique	20
3. Détermination de l'azote Kjeldahl	20
4. Dosages du phosphore assimilable	21
5. Détermination de la teneur totale des éléments en trace métalliques	21
<b>III. Effet des extraits algaux sur la croissance des microorganismes, l'activité respiratoire et sur l'activité des déshydrogénase dans les sols</b>	<b>22</b>
1. Dénombrement des bactéries	23
2. Mesure de l'activité respiratoire	23
3. Détermination de l'activité des déshydrogénases	24
<b>IV. Effet des extraits algaux sur la germination</b>	<b>25</b>
<b>Résultats et discussions</b>	
<b>I. Analyses chimiques du sol agricole et du déchet minier</b>	<b>27</b>
<b>II. Effet des extraits algaux sur la croissance des microorganismes</b>	
<b>l'activité respiratoire et sur l'activité des déshydrogénase dans les sols</b>	
4. La croissance des bactéries	29
5. L'influence des extraits algaux sur l'activité respiratoire	31
6. L'activité des déshydrogénases	33
<b>III. Effet des extraits algaux sur la germination</b>	<b>35</b>
<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>37</b>

# **Remerciements**

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur BOULARBAH Ali Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech qui m'a accueillie au sien de son équipe et qui a dirigé ce travail, ça ne sera pas suffisant pour leur exprimer toute ma grande reconnaissance pour la confiance et le grand soutien et disponibilité qu'il m'a accordée pour avancer ce travail. Il a fait preuve à la fois d'une grande patience, gentillesse et d'un esprit responsable, critique et rigoureux.

Mes profonds sincères remerciements vont également à mon co-encadrant Mr. Saâd RACHIQ Professeur à la Faculté des Sciences Technique Fès.

Je souhaite exprimer toute ma gratitude à Mr. BEN ABIDATE pour sa disponibilité, ses enseignements, son bon sens, sa générosité au cours de notre formation.

J'exprime mes sincères remerciements à Mr ELKAWA Mimoune Professeur à FSTG qui m'a aidée et encouragé lors des sorties.

J'ai une attention toute particulière pour Dr. LOQMAN Souad post-doctorante à la FSTG au sien du Laboratoire Aliments, Environnement et Santé et au Laboratoire Chimie des Matériaux et de l'Environnement, dans le cadre du projet AUF N° 6313PS015 et dans le cadre de la chaire de recherche du CRDI (Canada), en Gestion et Stabilisation des Rejets Industriels et Miniers, qui a sué avec beaucoup d'enthousiasme et de sympathie me conseiller utilement.

Je tiens à remercier également Mr HAFIDI Mouhamed responsable du Laboratoire de Pédologie et Environnement à FSSM qui m'a accueillie au sien de son laboratoire pour faire les analyses physico-chimiques.

Je remercie en particulier Mlle Echafii Kawtar pour les efforts qu'elle a fournis durant les séances d'analyses physico-chimiques des sols.

Je ne peux omettre de remercier les membres du jury qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail.

J'adresse également mes remerciements à tous les préparateurs du département de biologie à la FSTG Marrakech en particulier Said, Maryem, Soufia pour leur aide.

Je tiens également à remercier les personnes qui, de diverses façons et à différents moments, m'ont apporté leur aide et leur soutien, Karim, SiMohamed, Moustapha, Mouhsine.

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Flux et stock des éléments traces vers le sol	5
Figure 2 : Schéma illustrant la mobilité des métaux lourds	7
Figure 3 : espèces d'algues utilisées (a) <i>Fucus spiralis</i> , (b) <i>Enteromorpha intestinalis</i>	19
Figure 4 : Essai des sols traités avec les différents extraits algaux	22
Figure 5: Effet des extraits algaux sur la croissance des microorganismes	30
Figure 6 : Effet des extraits algaux sur la minéralisation des carbones	32
Figure 7 : Effet des extraits algaux sur l'activité de déshydrogénase	34

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques physicochimiques de terres étudiées	28
Tableau 2 : L'effet des extraits algaux sur la germination de l'orge	35

# *Etude bibliographique*

# Introduction générale

Le sol est le support physique des constructions et infrastructures, un substrat pour les végétaux, un support pour l'activité industrielle, agricole ou domestique, un réceptacle pour les rejets et l'enfouissement des déchets et un filtre contrôlant la qualité de l'atmosphère et des eaux (Craul, 1999; Morel *et al.*, 1999; Schwartz *et al.*, 2000; Morel *et al.*, 2005). Le sol constitue ainsi une ressource fondamentale en assurant la production primaire dont dépend directement la population humaine. Le sol est un milieu vivant et fragile. Il est le siège d'intenses échanges et transformations biologiques et physico-chimiques. Le sol, bien que pouvant être restauré et plus ou moins reconstitué, reste une ressource non renouvelable en raison de la longue période nécessaire aux processus de sa formation. Cette propriété le rend particulièrement sensible aux agressions anthropiques. Ainsi, sa dynamique peut être accélérée ou modifiée par les activités humaines qui utilisent de manière non raisonnée les multiples fonctions du sol. L'activité humaine (Pratiques agricoles, opérations de génie civil, gestion de déchets, déforestation, pollutions accidentelles organiques et chimiques) conduit à une forte dégradation des propriétés physicochimiques et biologiques des sols.

L'activité biologique d'un sol correspond au métabolisme de tous les organismes qui y développent, c'est-à-dire à l'ensemble des processus complexes de transformation de matière et d'énergie, au cours des phénomènes d'anabolisme et de catabolisme qui s'effectuent au sein de son peuplement.

Selon leur nature et leur action, les êtres vivants ont une influence plus ou moins marquée sur la morphologie des sols, leurs qualités physiques, leurs caractéristiques chimiques, leurs dynamiques et leurs fertilités.

La faune du sol contribue grandement à la fragmentation des débris végétaux, et la microflore à sa minéralisation. Les microorganismes, en particulier les bactéries, jouent un rôle essentiel dans les écosystèmes aquatiques et terrestres. Dans le sol, ils interviennent dans les cycles biogéochimiques des éléments nutritifs (carbone, azote, phosphore, soufre, fer, manganèse) et assurent une partie importante du recyclage de la matière organique et contribuent à la structuration du sol et à l'amélioration de la nutrition minérale des plantes. En outre, les microorganismes peuvent stimuler la croissance des plantes en produisant diverses substances telles que les phytohormones.

Les microorganismes des sols sont soumis à divers stress abiotiques (salin, pollution par les métaux lourds et pesticides, teneur faible et non biodisponible de nutriment, ...) qui réduisent leur activités et leur croissance dans les sols.

Pour faire face à la faible fertilité des sols, l'apport d'engrais chimiques est souvent utilisé. Cependant, cette méthode, même si elle permet de produire plus, contribue à la pollution de l'environnement par divers composés (Nitrate, phosphate, ..). Comme alternative aux engrais chimiques, divers amendements (compost, fumier, bactéries favorisant la croissance des plantes) sont utilisés comme fertilisants mais peu de travaux ont été publiés sur l'utilisation d'extraits algaux pour améliorer la fertilité des sols.

L'objectif de notre travail, consiste à déterminer l'effet de l'amendement d'un sol préparé à partir d'un déchet minier (M1) et d'un sol agricole par des extraits algaux sur le fonctionnement biologique de ces sols.

L'efficacité de l'amendement de deux types de sols (sol agricole et M1 : pollué par Cu) par des extraits algaux sur leur fonction biologique est déterminée par :

- ✓ Le dénombrement des bactéries sur des milieux spécifiques ;
- ✓ La mesure de l'activité microbienne (activité respiratoire et déshydrogénase).

Nous avons également déterminé l'effet de ces mêmes extraits sur la germination des graines d'orge dans des sols pollués et non pollués par les métaux lourds.

# **I. Le sol**

## **1. Définition**

Le sol est un milieu polyphasique composé d'une phase solide (minérale et organique), d'une phase liquide, d'une phase gazeuse et, colonisé par des organismes vivants. Il est traversé par des flux d'énergie et de matière dont la régulation est en grande partie assurée par les communautés vivantes qui le colonisent. C'est un milieu organisé et cette organisation, qui influe directement sur l'ensemble des propriétés du sol, dépend des interactions bio-organominérales. Le sol, bien que pouvant être restauré et plus ou moins reconstitué, reste une ressource non renouvelable en raison de la longue période nécessaire aux processus de sa formation. Cette propriété le rend particulièrement sensible aux agressions anthropiques. Ainsi, sa dynamique peut être accélérée ou modifiée par les activités humaines qui utilisent de manière non raisonnée les multiples fonctions du sol. Les pratiques agricoles, les opérations de génie civil, la gestion de déchets, la déforestation, les pollutions accidentelles organiques et chimiques, sont autant d'activités qui conduisent à une modification durable de ces propriétés et dégradent sa qualité.

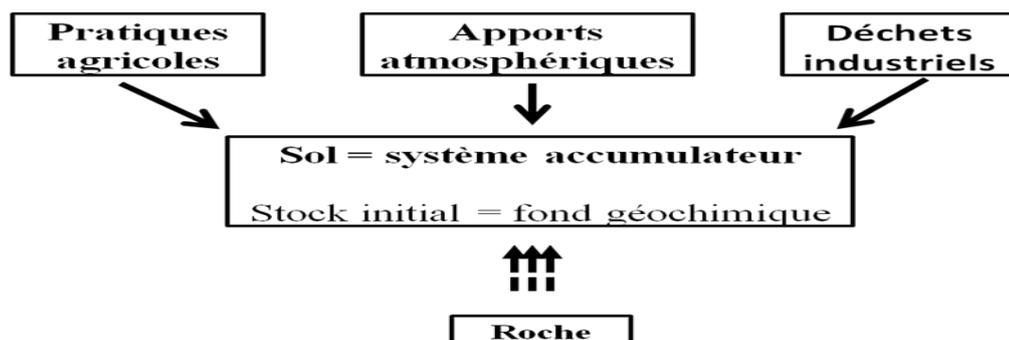
## **2. Source de pollution**

Le terme de pollution désigne l'ensemble des rejets de composés toxiques que l'homme libère dans l'écosphère, mais aussi les substances qui, sans être vraiment dangereuses pour les êtres vivants, exercent une influence perturbatrice sur l'environnement (Robert et Juste, 1997).

Le développement considérable des activités industrielles qui a provoqué un accroissement important des nuisances et des pollutions en rejetant dans l'environnement des sous-produits : organiques et inorganiques conduisant à la pollution de l'air, des eaux et des sols.

Les polluants organiques de l'environnement, pour la plupart d'origine anthropique, constituent des xénobiotiques pour les organismes. Beaucoup d'entre eux sont toxiques et sont relâchés dans l'environnement en raison de rejets volontaires ou accidentels de produits (hydrocarbures, solvants), des activités militaires (explosifs, armes), des pratiques agricoles

(herbicides, pesticides) et industrielles (chimique et pétro-chimique), de l'industrie du bois. Des traitements physiques, physico-chimiques peuvent être appliqués pour extraire, transformer la substance indésirable en un composé inoffensif mais c'est le traitement biologique qui constitue la technique la plus importante car elle permet la dégradation de ces corps indésirables (Koller, 2004). Les polluants inorganiques se produisent naturellement dans la croûte terrestre ou l'atmosphère mais aussi sous l'effet des activités humaines telles que l'extraction des minerais, les industries chimiques (peintures, imprimeries, matières plastiques, tanneries, papeteries, constructions de machines...), le traitement des déchets radioactifs, le trafic routier, l'agriculture et les activités militaires. En fait, les activités humaines génèrent de nombreux déchets qui pour beaucoup sont enrichis en éléments métalliques. Cette accumulation des métaux dans la biosphère perturbe le développement des végétaux, de la microflore et de la microfaune du sol. L'aération du sol s'en trouve réduite et ceci freine alors très nettement la dégradation de l'humus par les microorganismes aérobies. Il en découle une diminution des formes azotées minérales c'est-à-dire une baisse de la fertilité du sol, préjudiciable au bon développement des végétaux. En effet, l'appauvrissement du sol en éléments nutritifs ajouté à une absorption excessive des métaux peut conduire à la disparition de certaines espèces non tolérantes, pouvant à terme produire une perte de la biodiversité. L'homme absorbe les polluants principalement par la voie alimentaire, l'eau potable et par la respiration. Ainsi toute la chaîne alimentaire se trouve perturbée par la pollution du sol par les métaux.



**Figure 1:** Flux et stock des éléments traces vers le sol (Robert et Juste, 1997).

### **3. Les métaux lourds**

#### **3.1 Définition des « métaux lourds »**

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<sup>3</sup> (Adriano, 2001).

D'un autre point de vue biologique, on en distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques : métaux essentiels et métaux toxiques.

#### **3.2 Origine des métaux lourds**

Les métaux lourds sont des constituants naturels de tous les écosystèmes et on les trouve dans l'atmosphère, l'hydrosphère, la lithosphère et la biosphère. Leur distribution dans l'environnement procède de deux origines :

- l'une, naturelle est le résultat de processus géogéniques comme l'érosion, les précipitations géochimiques de roches et de l'eau de source, l'activité volcanique (Sanita di Toppi et Gabbrielli, 1999 ; Baize et Sterckeman, 2001) ;

- l'autre, relève des activités anthropogéniques. En effet, ces dernières années, le développement des activités industrielles a provoqué un accroissement considérable de la teneur en métaux lourds dans l'environnement (Bitton et *al.*, 2001 ; Boularbah et *al.*, 2002 ; Boularbah et *al.*, 2006a ; Boularbah et *al.*, 2006b ; El Khalil et *al.*, 2008 ; El Hamiani et *al.*, 2010). Les métaux lourds peuvent être introduits dans l'environnement sous forme gazeuse, dissoute ou de particules liées. Ces polluants peuvent pénétrer dans le sol par voie aérienne (déposition sèche), en utilisant l'eau comme vecteur de transport (précipitation, eau de surface, déposition humide) ou encore via des solides organiques tels les boues des stations d'épurations des eaux usées, le compost, les fertilisants et les pesticides (Schmitt- Sirguyey, 2004).

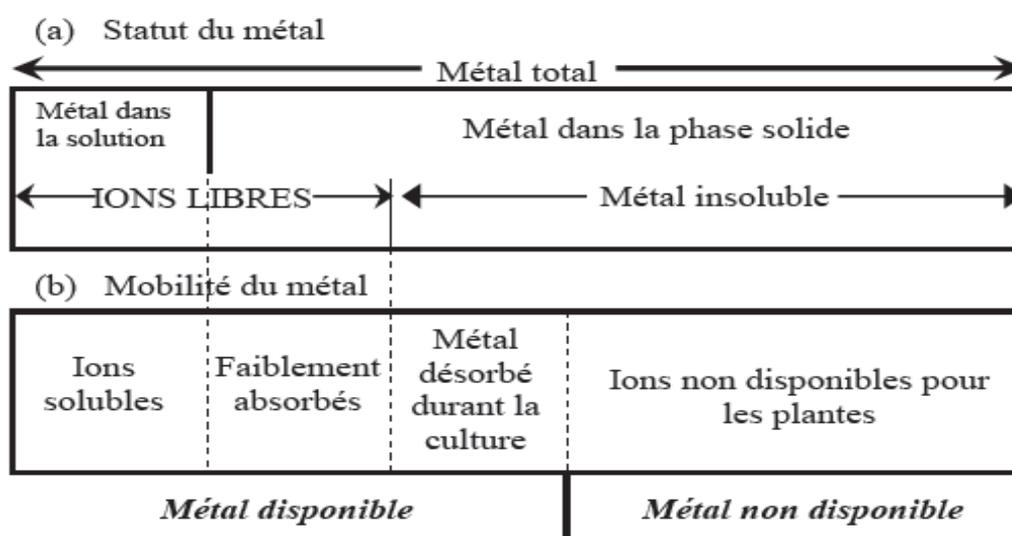
### 3.3 Les métaux lourds : oligoéléments ou éléments toxiques

Si certains éléments métalliques ou oligo-éléments (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni), présents à l'état de traces, sont essentiels pour l'organisme, l'accroissement de leur concentration peut représenter un danger pour les êtres vivants. Les autres éléments sont neutres ou toxiques (Marschner, 1995). A cette catégorie appartiennent différents éléments, dont la présence est fortement aggravée par les activités humaines dans l'environnement, tels le plomb, le mercure, le cadmium... (Adriano, 2001 ; Alkorta et *al.*, 2004).

### 3.4 Mobilité et biodisponibilité des métaux lourds

La toxicité d'un métal dépend de sa spéciation (forme chimique) autant que des facteurs environnementaux (Babich, 1980). Dans le sol, les métaux lourds peuvent exister sous forme d'ion libre 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, directement liée à sa toxicité. Enfin, la biodisponibilité des métaux lourds varie en fonction de plusieurs facteurs du sol Parmi lesquels :

La capacité d'échange de cation (CEC), le pH, le potentiel redox (Eh), la teneur en phosphate disponible, la teneur en matière organique et les activités biologiques.



**Figure 2** : Schéma illustrant la mobilité des métaux lourds (D'après Shallari, 1997)

## **4. Problèmes liés aux métaux lourds**

La contamination des sols par des métaux lourds est l'un des problèmes environnementaux majeur, pouvant générer des risques de santé publique ainsi que des perturbations dans la dynamique et le fonctionnement des écosystèmes. Les métaux lourds, généralement présents sous forme de traces dans l'environnement, sont pour la plupart nécessaires à la vie. Cependant à fortes concentrations les métaux peuvent devenir toxiques (Nies, 2004). Seul un nombre limité d'espèces végétales et bactériennes ont été capables de développer des systèmes de tolérance aux métaux (Gremio, et *al.*, 2004).

### **4.1 Effets toxiques sur l'homme**

Les métaux lourds sont des polluants particulièrement toxiques pour la santé humaine. Cette toxicité est renforcée par un phénomène d'assimilation et de concentration dans l'organisme qu'on appelle la bioaccumulation. Les métaux lourds présents dans les micro-organismes, les végétaux, les poissons et les autres animaux sont ingérés et s'accumulent dans l'organisme des animaux puis des hommes à chaque étape de la chaîne alimentaire. En bout de chaîne, certains métaux, notamment le cadmium, le plomb et surtout le mercure sous forme méthylée, se retrouvent en quantité concentrée dans l'organisme du consommateur final. Ainsi plusieurs accidents ont été causés par ceux-ci, parmi les quels ont peut citer :

- Plusieurs milliers de victimes à Minamata (Japon) en 1953- 70 ont été dénombrés suite à la consommation d'aliment (poissons) contaminés par le mercure en provenance d'une usine de synthèse d'acétaldéhyde (Hunter ans Russel, 1954 ; Konodo, 1964).
- Les plombémies (surtout chez les enfants) causées par le plomb contenu dans l'essence et les peintures (Shannon et Graef, 1992 ; Jin et *al.*, 1995).
- La maladie d'Itaï-Itaï qui a provoqué une centaine de décès à Fuchu au japon suite à la consommation de riz contaminé par le cadmium provenant d'une usine métallurgique (Kasuya, 2000 ; Sadewa et *al.*, 2002).
- Les problèmes dues à la consommation d'eaux contaminées par l'arsenic provenant d'activités agricoles en Bangladesh (Alam et *al.*, 2003 ; Rahman et *al.*, 2003).

### 4.3 Effets toxiques sur les plantes

Beaucoup de plantes en présence de concentrations en métaux lourds trop importantes disparaissent. D'autres en revanche peuvent se développer sur les sols riches en métaux lourds mais ne les assimilent pas et préviennent ainsi toute accumulation d'éléments toxiques dans les organes récoltables et donc dans la chaîne alimentaire. D'autres enfin peuvent survivre en présence de métaux même toxiques et voire les accumuler dans certains organes (jusqu'à des concentrations supérieures à 1% de la matière sèche) ; ces plantes hyper-accumulatrices et métallophiles; sont considérées comme agents potentiels d'extraction de métaux indésirables. Les éléments traces sont ainsi absorbés par les racines, et y demeurent le plus souvent. Le passage dans les parties aériennes (tiges, feuilles) varient selon les métaux et sont les signes d'un accroissement de la concentration des métaux dans le sol, le plomb reste dans les racines. Le cadmium passe plus facilement dans les parties aériennes.

Les symptômes de la toxicité s'expriment différemment selon les éléments ; le cadmium induit une inhibition de la croissance de différentes parties des plantes. Ainsi, il produit une réduction de la biomasse des différents organes chez des plants aussi variés que le haricot (Poschenrieder *et al.*, 1989), le pois (Sandalio *et al.*, 2001 ; Chaoui *et al.*, 2004), le tournesol (Di Cagno *et al.*, 1999 ; Groppa *et al.*, 2007a), le riz (Fodor, 2002 ; Hassan *et al.*, 2005 ; Aina *et al.*, 2007), le saule et le peuplier (Lunackova *et al.*, 2003 ; Cosio *et al.*, 2005), l'ail (Liu *et al.*, 2003/4) et des plantes du genre Brassica comme le colza (Larsson *et al.*, 1998) et la moutarde indienne (Haag-Kerwer *et al.*, 1999). Ces inhibitions de la croissance s'accompagnent de changements anatomiques, structuraux et ultrastructuraux importants au niveau des feuilles (Baryla *et al.*, 2001 ; Sandalio *et al.*, 2001) mais également des racines (Lunackova *et al.*, 2003/4 ; Cosio *et al.*, 2005 ; Patel *et al.*, 2005). La réduction de l'élongation racinaire peut être causée par une inhibition de la division cellulaire et de la synthèse des polysaccharides pariétaux (Ernst *et al.*, 1992 ; Punz et Sieghart, 1993). L'exposition à long terme au cadmium produit au niveau des feuilles, l'apparition du phénomène de chlorose due à une diminution de la teneur en chlorophylle (Larsson *et al.*, 1998 ; Di Cagno *et al.*, 1999 ; Baryla *et al.*, 2001 ; Fodor, 2002 ; Cosio *et al.*, 2005).

#### 4.4 Effets toxiques sur les micro-organismes du sol

Les métaux lourds sont réputés pour leur toxicité sur la plupart des microorganismes telluriques en réduisant leur abondance et leur diversité (Boulabah et *al.*, 1992 ; Del Val, 1999 ; Abouddar et *al.*, 2007 ; El Khalil et *al.*, 2008). Leurs effets de dénaturation des protéines ou de destruction de l'intégrité de la membrane cellulaire affectent la croissance, la morphologie et le métabolisme de ces microorganismes telluriques (Leita et *al.*, 1995). Ces altérations conduisent à des réductions de biomasse microbienne. De nombreuses études montrent que la biomasse bactérienne d'un sol a tendance à diminuer suite à une contamination par un métal (Kandeler et *al.*, 1996 ; Smit et *al.*, 1997, Baath et *al.*, 1998 ; Konopka et *al.*, 1999 ; Kuperman et Carreiro, 1997 ; Kelly et *al.*, 1999 ; Ekelund et *al.*, 2003). D'ailleurs, Giller et al. (1998) estiment que, même à long terme et pour des faibles teneurs en métaux lourds, les microorganismes ne sont pas capables de maintenir une biomasse équivalente à celle d'un sol non pollué.

D'autres propriétés biologiques largement étudiées dans les études d'impact des métaux lourds concernent les activités enzymatiques, dont les activités respiratoires. L'effet néfaste des métaux lourds sur les activités enzymatiques du sol a souvent été souligné (Renella et *al.*, 2003 ; Landi et *al.*, 2000 ; Kandeler et *al.*, 1996 ; Kuperman et Carreiro, 1997 ; Haanstra et Doelman, 1991 ; Hattori, 1992). La sensibilité des activités vis-à-vis des métaux peut dépendre du type d'enzyme (Renella et *al.*, 2003). Dans une étude portant sur l'impact de différents métaux sur 13 enzymes impliquées dans les cycles du carbone (C), de l'azote (N), du phosphore (P) et du soufre (S), Kandeler et *al.*, (1996) ont montré que la réduction de leurs activités était plus ou moins sévère : celles impliquées dans le cycle du carbone étaient moins affectées que celle liées aux cycles du N, P, S. Les sols contaminés par les métaux lourds peuvent donc perdre certaines de leurs propriétés biochimiques indispensables au bon fonctionnement de l'écosystème. De plus, une étude récente a montré que l'impact de la contamination des sols par les métaux lourds peut s'étendre sur les sols agricoles et des jardins au voisinage des mines (Boulabah et *al.*, 2006 ; El Hamiani et *al.*, 2010).

## **5. Voies de décontamination des sols pollués par les métaux lourds**

Les nombreux cas de pollution par les métaux lourds génèrent autant de sols pauvres au niveau des sites contaminés qu'il faut réhabiliter. Les méthodes physico-chimiques de dépollution de ces sites utilisées in situ et ex situ présentent l'inconvénient d'être coûteuses et lourdes à mettre en œuvre (Gadd, 2000 ; Raskin et *al.*, 1994 ; Salt et *al.*, 1995). De plus, elles perturbent fortement l'activité biologique des sols et altèrent leur structure physique. Le besoin de nouvelles techniques économiquement compétitives et pouvant préserver les caractéristiques du sol s'est fait sentir et l'utilisation des voies biologiques s'est avérée être une alternative intéressante.

Les voies biologiques de décontamination des sols apparaissent alors comme des méthodes de substitution ou complémentaire, moins coûteuses et plus respectueuses des caractéristiques des sols (Mccartey, 1991a). Parmi les techniques employées, la phytoremédiation, la biolixiviation et la biovolatilisation. Elles font intervenir des bactéries, des champignons et/ou des végétaux supérieurs.

En plus de l'utilisation des voies biologiques pour la décontamination des sols contaminés par des métaux lourds et des apports d'amendements peuvent réduire l'érosion des sols et permettent d'inactiver les métaux.

## **6. Amélioration du sol par des amendements organiques et minéraux**

Les amendements organiques et minéraux des sols tels que les composts, les boues résiduelles de station d'épuration, les fumiers, les lisiers, l'irrigation avec des eaux usées brutes, les engrais chimiques, les pesticides, la chaux, les composés soufrés, dépôts marins peuvent contribuer à la fertilité des sols mais dans certains cas ils peuvent être une source de polluants métalliques (Cihacek et, 1995 ; N'Dayegamiye et Angers, 1990).

A la lumière de cette bibliographie, nous avons constaté que très peu de travaux scientifiques ont été publiés sur la faisabilité d'utiliser les algues comme fertilisant des sols. Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'utilisation des algues comme amendements verts sans risques pour l'environnement afin d'augmenter la fertilité des sols.

# **I. Les algues**

## **1. Généralités sur les algues**

Les algues sont des végétaux possédant un appareil végétatif simple ou "thalle" et qui sont tributaires de deux facteurs écologiques, la lumière et l'eau. En effet, la grande majorité des algues vit en milieu aquatique bien qu'on en rencontre aussi en milieu aérien (sur les sols, les rochers, les arbres, dans la terre, dans la neige...où une certaine humectation est toujours possible).

Parmi les algues qui vivent dans l'eau, certaines flottent ou sont en suspension dans l'eau; elles se laissent le plus souvent entraîner passivement par les courants (bien que quelques fois capables de mobilité). Elles constituent le plancton végétal ou phytoplancton. D'autres de plus grandes tailles, parfois flottantes mais le plus souvent fixées sur le fond ou sur d'autres organismes eux mêmes fixés, constituent le phytobenthos.

## **2. Classification et composition des algues**

Les pigments sont considérés comme l'un des critères de classification des algues. Ils permettent de distinguer les deux types d'algues étudiées dans ce travail.

### **2.1. Les algues vertes (chlorobiontes)**

En majorité les algues marines sont essentiellement macroscopiques et benthiques celles d'eau douces sont le plus souvent microscopiques.

Le groupe est homogène en ce concerne la composition pigmentaire et le métabolisme glucidique. En effet, toutes ces algues renferment les chlorophylles a et b, du  $\beta$ -carotènes et des oxycarotènes (lutéines, zeaxanthines, violaxanthines). Le produit glucidique élaboré par la photosynthèse est l'amidon d'origine intraplastidiale (Gayral, 1975).

Toutes les algues vertes contiennent du saccharose sauf la classe des prasinophycées qui contient du mannitol. Dans la grande majorité des cas, la paroi est pecto-cellulosique.

L'organisation des thalles est très variable chez les algues vertes ; elle va de l'archéthalle le plus simple (unicellulaire) au protothalle de forme variée (filamenteuse, lamellaire, tubuleuse) jusqu'au cladome. L'appareil plastidial est très variable et montre une évolution

du type archéoplastidié vers la structure neoplastidiée. Cet embranchement est subdivisé en 3 classes charophycées, zygophycées, chlorophycées.

## **2.2. Les algues rouges (Rhodobiontes)**

Les algues rouges sont généralement des algues marines de morphologie très variable: les plastes sont colorés en rouges par les bilichromoprotéines (phycoyanine + phycoérythrine). Elles contiennent des chlorophylles a associées à des caroténoïdes et à des xanthophylles. Les algues rouges synthétisent des réserves glucidiques proches des dextrines et du glycogène. Elles se présentent sous forme de grains d'amidon floridées et éparpillés dans le cytoplasme et non contenues à l'intérieur des plastes comme chez les algues vertes et les végétaux supérieurs.

En outre, elles élaborent des hétérosides particuliers résultant de l'union des galactoses et des glycérols (floridoside) ou des mannoses et l'acide glycérique (mannoglycerates de sodium) ; ces hétérosides s'accumulent dans les vacuoles. Nous pouvons aussi avoir des polyalcools du chlore ou du brome qui s'accumulent au niveau des cytoplasmes.

La paroi est constituée de cellulose ou bien du xylose pure, galactone sulfate (agar, carrageennane) et du calcaire. La paroi est caractérisée par la présence de synapse, composé complexe contenant des polysaccharides acides. Donc les algues rouges représentent une réserve économique importante par les polysaccharides qui de par leurs tailles et leur structure ne peuvent être synthétisés artificiellement.

Les algues rouges sont classées en deux groupes. Le premier groupe (Bangiophytidées), le plus primitif, est composé d'espèces toujours unicellulaires. Le second groupe (florideophytidées) constituant la majorité des Rhodophycées ne comprenant que des espèces à thalles pluricellulaires.

## **2.3 Les algues brunes (chromobiontes)**

Les algues brunes comprennent sept Embranchements.

Les plastes de couleurs brunes dont les chlorophylles a et c sont masqués par la  $\beta$ -carotène et des oxycarotéines, le plus important étant la fucoxanthine pigment caractéristique des algues brunes. Les matières de réserve consistent en laminarine et en mannitol, dissous dans le suc vacuolaire. Elles se trouvent également sous forme de globules lipidiques dans le

cytoplasme. La paroi cellulaire pecto-cellulosiques, est généralement riche en composés pectiques; les alginates.

Ce phylum est caractérisé par une inclusion particulière les physodes : ce sont des globules réfringents souvent localisées autour du noyau. Ces physodes ont la propriété de prendre une teinte rouge en présence de la vanilline chlorhydrique. L'appareil végétatif est toujours pluricellulaire de taille très variée. Il ne présente jamais d'archéthalle, mais on trouve très fréquemment des prothalles, des thalles à cladome dont la majorité présente une différenciation poussée au niveau morphologique et anatomique.

La plupart des algues brunes présentent une alternance entre une génération haploïde et diploïde. Le thalle haploïde forme les gamètes et le thalle diploïde forme les zoospores par méiose. Le thalle haploïde (gamétophyte) et le thalle diploïde (sporophyte) peuvent être semblables (isomorphe) ou différents (hétéromorphe).

### **3. Utilisation des algues**

#### **1.1 Les Rhodobiontes**

Les algues rouges sont employées comme engrais, car leur décomposition dans le sol apporte à celui-ci de nombreux sels minéraux.

Certaines algues calcaires (carolina) sont utilisées comme amendement des terrains trop pauvres en calcaire.

Dans certains pays, comme le Japon, certaines algues rouges entrent couramment dans l'alimentation telle les porphyra. L'utilisation la plus généralisé des algues rouges est la production industrielle de substances polysaccharidiques renfermant une certaine proportion de monomères sulfates. Ces substances, élaborées au niveau des parois, sont plus ou moins solubles dans l'eau bouillante et donnent deux produits industriels : l'agar-agar (ou gélose) est utilisé dans plusieurs domaines comme épaississant et stabilisant et la carraghenanes (Gayal, 1975) qui est un produit chimiquement voisin de l'agar, surtout employé dans la préparation des crèmes glacées des pâtisseries.

## 1.2 Les Chromobiontes

Les algues brunes sont utilisées comme biofertilisants de sol par leurs richesses en azote. Elles sont également plus riches en iode et moins riches en acide phosphorique par rapports au fumier (Etahiri, 2002).

## 3.3. Les Chlorobiontes

Elles sont utilisées pour la production de  $\beta$ -carotène destinée à l'élevage de volailles afin d'améliorer la qualité des œufs dont le jaune devient plus coloré et la coquille plus résistante (Etahiri, 2002).

Certaines d'entre elles représentent une source nutritionnelle importante ; c'est le cas des Ulves qui constituent un aliment très populaires au Japon, et qui sont riches en protéines en acides aminées et surtout en arginine (Etahiri, 2002).

L'usage des algues comme engrais remonte au moins au XIXe siècle. Les habitants des côtes ont été les premiers utilisateurs, récupérant les débris laissés par les tempêtes, généralement de grandes algues brunes, et les enfouissant dans la terre. Les algues, avec leur forte teneur en fibres, jouent un rôle de conditionneur du sol et aident à garder l'humidité, alors que les minéraux des algues constituent des engrais et une source d'oligo-éléments utiles. Au début du XXe siècle, une petite industrie s'est développée, qui consistait à sécher et à moulinier ce qui était pour l'essentiel des débris abandonnés par la tempête, mais l'activité a baissé avec l'arrivée des engrais chimiques synthétiques. Aujourd'hui, grâce à la popularité croissante de l'agriculture organique, cette industrie a connu un certain renouveau, mais elle reste encore limitée; en raison du coût cumulé du séchage et du transport, l'usage de ces engrais est cantonné dans des pays au climat ensoleillé où les acheteurs ne se trouvent pas trop éloignés de la côte.

Les engrais aux algues marines ont des possibilités d'expansion grâce aux extraits d'algues liquides, qui peuvent être produits sous forme concentrée, l'utilisateur assurant la dilution. Plusieurs de ces extraits sont applicables directement sur les plants ou bien on arrose la zone des racines. Un certain nombre d'études scientifiques démontrent que ces produits peuvent être efficaces et les extraits d'algues sont maintenant très bien acceptés dans l'horticulture. Pour la culture des arbres fruitiers, des légumes et des fleurs, ils ont permis de réaliser des progrès, en particulier des rendements plus élevés, une meilleure assimilation des

nutriments, une plus grande résistance à certains organismes nuisibles tels que l'araignée rouge et les aphides, une meilleure germination, et une résistance accrue au gel. Personne ne connaît avec certitude les raisons de leur efficacité: les oligo-éléments qu'ils contiennent ne suffisent pas à expliquer l'amélioration du rendement, etc. La plupart des extraits contiennent plusieurs sortes de régulateurs de la croissance des plantes, mais, même dans ce cas, il n'est pas sûr que cela soit le facteur unique d'amélioration. En 1991, on estimait qu'environ 10 000 tonnes d'algues humides permettaient d'obtenir par an 1 000 tonnes d'extraits d'algues d'une valeur de 5 millions de dollars US (African Development Fondation, 2006). Mais, depuis lors, le marché a probablement doublé, parce que d'une part l'utilité de ces produits est davantage admise et, d'autre part, l'agriculture biologique fait davantage d'adeptes (il s'agit d'un domaine où ces extraits sont particulièrement efficaces pour la production de légumes et de certains fruits).

## ***MATERIELS ET METHODES***

## **I. Matériaux utilisés**

### **1. Déchet minier**

Le déchet étudié est localisé dans une mine abandonnée (mine Kettara) située à 30 Km de la ville de Marrakech sur la route de Safi. Le site minier montre globalement des colorations très variées du fait de la présence de nombreux déchets miniers. Cette mine a été le siège de l'exploitation de Cu, S et du fer depuis 1962 à 1982. Elle a produit plus de 3 millions de tonnes de résidus qui, en plus de leur charge importante en polluant métalliques, contiennent des sulfures de fer notamment de la pyrrhotite. Cette dernière a été utilisée par le l'entreprise Maroc Chimie 1 (groupe OCP), situé à Safi, pour produire l'acide sulfurique.

### **2. Sol agricole**

Le sol utilisé pour cette étude provient de la zone de Souihla, située à 12 km de la ville de Marrakech sur la route d'Agadir.

### **3. Algues**

La récolte des algues a eu lieu en mars 2011 à Sidi Bouzid sur la côte atlantique (3 km au sud d'El Jadida).

## **II. Echantillonnage**

### **1. Déchet minier**

Des échantillons de déchet minier et de sol agricole (non contaminée) ont été prélevés puis séchés à l'étuve à 50°C et tamisés à 2 mm avant analyses physicochimiques.

### **2. Algues**

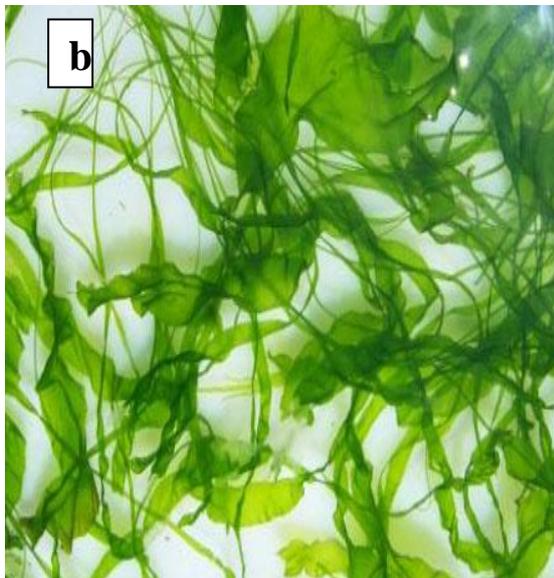
Des échantillons des algues *Fucus spiralis* et *Enteromorpha intestinalis* ont été récoltés, lavés plusieurs fois avec l'eau de robinet et par la suite trois fois avec l'eau distillée afin d'éliminer tout corps étranger qui pourrait influencer l'évaluation des activités biologiques. Ils ont été ensuite déposés pendant 36 heures dans des égouttoirs pour enlever l'excès d'eau puis chaque espèce a été coupée en petits morceaux enfin macérés dans l'eau distillée bouillante (1 kg de chaque espèce dans un litre). Les extraits récupérés de chaque espèce ont

été dilués avec de l'eau distillée (10% et 50%) et autoclavés à 120°C puis conservés au congélateur à 4°C jusqu'à leur utilisation.

La figure 3 montre la classification des espèces utilisées dans notre étude :



Phylum : Chromophytes  
Embranchement : chromophyta  
Classe : Fucophyceae  
Ordre : fucales  
Genre : Fucus  
Espèce : *Fucus spiralis*



Phylum : Chlorophytes  
Embranchement : Chlorophyta  
Classe : Chlorophyceae  
Ordre : Ulotrichales  
Genre : Enteromorpha  
Espèce : *Enteromorpha intestinalis*

**Figure 3** : espèces d'algues utilisées (a) *Fucus spiralis*, (b) *Enteromorpha intestinalis*.

### **III. Analyses chimiques du sol agricole et du déchet minier**

Les analyses chimiques (C, N kjeldhal et P assimilable) ont été réalisées au laboratoire de sol et environnement à la faculté des Sciences Semlalia (FSSM).

#### **1. Mesure du pH des matériaux étudiés**

Une quantité de 10 g de chaque échantillon est mélangé avec 20 ml d'eau après 30 min d'agitation à température ambiante, on mesure le pH à l'aide d'un pH mètre.

#### **2. Détermination de la teneur en carbone organique**

L'oxydation du carbone organique est effectuée à l'aide de bichromate de potassium  $K_2Cr_2O_7$  en milieu acide (méthode Anne décrite par Aubert, 1987). Une prise d'essai de 0,5g d'échantillon, subit une attaque pendant 30 min par le bichromate de potassium (1N) en présence de 20 ml d'acide sulfurique concentré (36N). Après l'arrêt de la réaction par 100 ml d'eau distillée, on prélève 25 ml de la solution et on rajoute 5 ml de l'acide ortho phosphorique et 3 gouttes diphénylamine. Après l'agitation, l'excès de bichromate est titré par une solution de sulfate de fer (N/2). Un blanc est réalisé dans les mêmes conditions. Le carbone organique est donné par la formule suivante :

$$\%COT = (V_t - V_e) \times F / pV_t$$

La matière organique est déterminé par la relation :  $\%MO = \%C \times 1,724$

$V_t$  : Volume de titre de témoin ;  
 $V_e$  : Volume de titre de l'échantillon ;  
 $P$  : Poids de la prise d'essai ;  
 $F$  : Facteur de correction.

#### **3. Détermination de l'azote Kjeldahl**

L'azote total Kjeldahl est la somme de l'azote organique et de l'azote ammoniacale. Une prise d'essai d'1 g de l'échantillon sec bien broyé subit une minéralisation par 20 ml d'acide sulfurique concentré en présence de 0,5g de catalyseur (sélénium, sulfate de potassium et sulfate de cuivre). Le minéralisât est récupéré dans 100 ml d'eau distillée, l'azote organique est transformé en ammonium et fixé sous forme de sulfate d'ammonium.

L'ammonium est ensuite déplacé par la soude (40%) et l'ammoniaque formée est distillée et fixée dans 20 ml de l'acide borique et l'indicateur coloré. Le dosage se fait par l'acide sulfurique (0,054 N).

#### **4. Dosage du phosphore assimilable**

L'extraction est effectuée sur 1g de sol par une solution de bichromate de sodium (0,5N) ; après 30 min d'agitation le mélange est filtré sur un filtre WATMAN de porosité de 125 µm.

Pour 5 ml de filtrat, on ajoute 5 ml de réactif AB (20 ml du réactif A "molybdate du sodium, solution à 2,5% dans l'acide sulfurique 10 N" et 10 ml du réactif B "sulfate d'hydrazine à 0,15% dans l'eau").

Après homogénéisation, le complexe est réduit à chaud pendant 10 min dans un bain marie bouillant.

La densité optique est mesurée après refroidissement au spectrophotomètre à 820 nm et la concentration du phosphore est déterminée à partir d'une gamme étalon constituée de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1 mg P/L.

#### **5. Détermination de la teneur totale des éléments en trace métalliques dans les sols**

Cette opération a été réalisée selon le protocole de l'attaque à eau régale présenté dans la norme française NF X 31-415 et la norme ISO II 466. Il s'agit d'une extraction des éléments traces solubles dans l'eau régale (1 volume d'acide nitrique / 3 volume d'acide chlorhydrique). 1 g de terre a été mis dans 10 ml d'eau régale (2,5 ml d'acide nitrique et 7,5 ml d'acide chlorhydrique) pendant au moins 12 heures. Le mélange a été, ensuite, digéré à chaud pendant 2 heures. Cette opération a été répétée autant de fois nécessaire jusqu'à l'obtention de particules blanchâtres. Ensuite, le minéralisât obtenu a été filtré et ajusté à 25 ml par de l'eau acidifiée à 1 % d'acide nitrique avant le dosage des métaux en spectromètre d'émission atomique par plasma à couplage induit (ICP-AES).

#### IV. Effet des extraits algaux sur la croissance des microorganismes, l'activité respiratoire et sur l'activité des déshydrogénase dans les sols

L'effet des extraits algaux sur le nombre des bactéries, l'activité respiratoire et l'activité des déshydrogénase a été évalué dans le sol agricole puis sur le sol M1. Le sol M1 est a été préparé en mélangeant le sol agricole et le déchet minier à des proportions (1/2 :1/2).

##### *Préparation des échantillons de sol*

Pour évaluer l'effet de l'amendement des sols par des extraits algaux. Chaque type de terre (sol agricole, M1) a été humidifié 55% de sa capacité au champ par les extraits algaux d'*Enteromorpha intestinalis* et *Fucus spiralis* préparés à concentration de 10% et 50%, Le témoin a été humidifié avec la même quantité de l'eau distillée stérile. La figure 4 présente le schéma général de l'essai.

Les différents pots ont été stockés en serre et des prélèvements ont été effectués après chaque 10 jour pour le sol agricole et 5 jours pour les mélanges. Trois répétitions pour chaque traitement ont été réalisées. Sur chaque prélèvement, un dénombrement de bactéries, la mesure de l'activité respiratoire et des déshydrogénases ont été déterminés selon les protocoles décrits dans les paragraphes suivants.



**Figure 4 :** Essai des sols traités avec les différents extraits algaux.

## **1. Dénombrement des bactéries**

Nous avons utilisé la méthode de dénombrement indirecte sur milieu solide selon la méthodologie décrite par Boularbah et *al.*, (1992). Le nombre de colonies est compté pour en tirer une estimation de la population microbienne de l'échantillon.

Les microorganismes ont été isolés à partir de 10 g de terre fraîche dans 100 ml de solution saline stérile (9 ‰ NaCl) pendant 30 min (Boularbah et *al.*, 1992 ; Abouddrar et *al.*, 2007). Les particules de terre ont été ensuite éliminées par une centrifugation à une vitesse de 2000 tr/min pendant 10 min. le surnageant obtenu correspond à la solution mère, est soumis à une série de dilution décimale de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  dans l'eau physiologique stérile (9 ‰ NaCl).

Pour dénombrer les bactéries, on procède à l'ensemencement de 0,1 ml de la suspension mère et ses dilutions par étalement en surface sur milieu TSA (Tryptic soy agar). Ce milieu est composé pour un litre d'eau distillée de : 15 g de peptone de caséine, 5 g de peptone de soja, 5 g de chlorure de sodium et 15 g d'agar. On ajoute au milieu de culture le cycloheximide comme antifongique à une concentration de 50 mg/l. le pH est ajusté à 7,3.

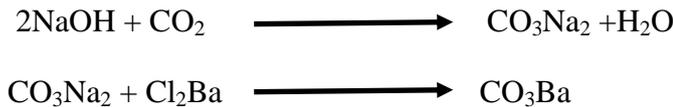
Les boîtes de pétri ont été incubées à 28 °C et la lecture effectuée après 48 heures pour le sol agricole et 72 heures pour M1.

## **2. Mesure de l'activité respiratoire**

L'effet sur la minéralisation du carbone du sol est estimé par la quantification du CO<sub>2</sub> dégagé par la respiration des micro-organismes du sol. La méthode consiste à piéger le CO<sub>2</sub> produit lors de la respiration par une solution de NaOH en excès et de le précipiter par le chlorure de barium. Le dosage de la quantité de NaOH restant libre nous permettra de déterminer la quantité de CO<sub>2</sub> produite lors de la respiration.

Une quantité de 50 g de chaque terre amendée ou non par les extraits algaux a été placée dans des dispositifs hermétiquement fermés afin de minimiser les pertes de CO<sub>2</sub> dégagé et par conséquent diminuer les risques d'erreur de dosage. Nous avons opté pour un piégeage du CO<sub>2</sub> dégagé par 25 ml d'une solution de soude à 0,05 M. Le témoin a été réalisé en absence de sol. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque sol. Les flacons ont été incubés à une température ambiante pendant 24 h.

Après incubation, la solution de soude est additionnée de 5 ml  $\text{Cl}_2\text{Ba}$  0,5 M et de quelques gouttes de phénophtaléine comme indicateur coloré. La base restante est titrée en retour à l'aide du  $\text{HCl}$  0,05 M jusqu'à la décoloration de la solution. Le dosage de la quantité de  $\text{NaOH}$  restant libre permet de déterminer la quantité de  $\text{CO}_2$  produite lors de la respiration selon les réactions suivantes :



Avec:  $\text{CO}_2 \text{ (mg)/PS} = (\text{V}_0 - \text{V}) \times 1,1/\text{PS}$

PS : Poids sec ;

$\text{V}_0$  : Volume témoin ;

V : Volume de l'échantillon.

1ml de  $\text{NaOH}$  est égal à 1,1 mg de  $\text{CO}_2$

### 3. Détermination de l'activité des déshydrogénases

L'activité enzymatique des déshydrogénases a été déterminée par la méthode utilisant le Triphenyl Tetrazolium Chlorure (TTC) comme sels de tetrazolium (Alef, 1995). La méthode est basée sur l'estimation du taux de réduction du TTC en Triphényle formazane (TPF) qui a une coloration rouge dans le sol après incubation à 30 °C pendant 24 h.



Un mélange de 5 g de sol et 5 ml de la solution TTC (0,8 g pour 100 ml de tampon tris  $\text{HCl}$  pH 7,6) a été disposé dans des tubes résistants aux solvants. Le témoin a été réalisé en ajoutant au sol uniquement 5 ml de tampon Tris  $\text{HCl}$ . Les flacons ont été incubés à 30°C pendant 24 h.

Le mélange est additionné de 40 ml d'acétone puis incubé pendant 2 heures en agitation pour extraire le formazane Formé. Les particules de terre ont été ensuite éliminées par une centrifugation à 7000 rpm pendant 15 min.

La densité optique est mesurée à 546 nm et la concentration du TPF est déterminée à partir d'une gamme étalon constituée de 0, 5, 10, 20, 30 et 40 mg TPF/L.

## **V. Effet des extraits algaux sur la germination**

L'essai de germination est réalisé selon la norme AFNORX31-201, il est basé sur la germination et le développement de l'embryon de la semence et des organes essentiels qui prouvent leur aptitude à produire une plante normale en pleine terre dans des conditions normales.

La semence utilisée est l'orge (Tamlalt) car elle est cultivée dans la région de Marrakech. Les graines sont semées au nombre de 10 graines dans 40 g de terre testée. Ces graines sont réparties d'une façon uniforme au fond des boîtes de pétri de 10 cm de diamètre.

L'incubation a été effectuée dans l'étuve à 23°C pendant 7 jours à l'obscurité et le comptage des graines germées se fait quotidiennement. Les essais sont humidifiés en cas de besoin par les extraits algaux. Les sols testés sont le sol agricole seul, le sol minier seul, les mélanges M1 (1/2 déchet minier, 1/2 sole agricole) et M2 (1/3 déchet minier, 2/3 sole agricole). Trois répétitions ont été réalisées pour chaque traitement.

## ***RESULTATS ET DISCUSSIONS***

## I. Analyse chimique

Les résultats présentés dans le tableau 1 montrent que le sol minier présente un pH très acide de 2,42 qui pourrait être expliqué par la présence des minéraux sous formes de sulfure (exemple : pyrite, pyrrhotite) (Hibti et *al.*, 1991 ; Hakkou et *al.*, 2005). L'oxydation chimique et/ou biologique de ces minéraux entraîne la formation de l'acide sulfurique et conduit à l'acidification des terrains avoisinants (Dubikova et *al.*, 2002; El Khalil, 2003 ; Hakkou et *al.*, 2005 ; Boularbah et *al.*, 2006a ; El Khalil et *al.*, 2008). Le sol minier contient également une faible teneur en matière organique (0,67%), une absence totale en azote, une faible teneur en phosphore assimilable et des teneurs totales élevées en Cu (1720 mg Kg<sup>-1</sup>) et en Zn (578 mg Kg<sup>-1</sup>).

A l'inverse le sol agricole est caractérisé par un pH neutre 7,44 ; des teneurs moyennes en matière organique (7,81%), une présence de l'azote avec un pourcentage de 0,35% des teneurs totales des éléments traces (52,5 mg Cu Kg<sup>-1</sup> et 141,2 mg Zn Kg<sup>-1</sup>) ne dépassent pas les normes AFNOR 1985 des sols (100 mg Cu Kg<sup>-1</sup> et 300 mg Zn Kg<sup>-1</sup>) (Schwartz, 1997).

Pour les mélange M1 (1/2 déchet minier, 1/2 sol agricole) et M2 (1/3 déchet minier, 2/3 sol agricole) nos résultats montrent que l'addition de sol agricole favorise l'augmentation des pH de 2,42 à 5,18 pour M1 et à 6,17 pour M2 ; du carbone organique, et de phosphore assimilable.

**Tableau 1** : Caractéristiques chimiques de terres étudiées

	<b>sol minier</b>	<b>sol agricole</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>
<b>pH</b>	2,42	7,44	5,18	6,17
<b>carbone organique(%)</b>	0,67	4,53	1,62	2,42
<b>phosphore assimilable mg/Kg</b>	0,3	14,6	4,98	6,82
<b>matière organique(%)</b>	1,17	7,81	2,79	4,17
<b>Azote total</b>	nd	0,35	nd	nd
<b>Teneur total mg/kg</b>				
<b>Cu</b>	1720 ± 228,32*	52,5 ± 17,9**	ND	ND
<b>Cd</b>	nd	nd	ND	ND
<b>Zn</b>	578 ± 233,52*	141,2±76,5**	ND	ND

nd: non détecté ; \*Loukili, (2005) ; \*\* El khalil, (2007) ; ND : non déterminé

## **II. Effet des extraits algaux sur la croissance des microorganismes, l'activité respiratoire et sur l'activité des déshydrogénases dans les sols**

### **1. La croissance des bactéries**

La comparaison des sols traités et non traités avec les extraits algaux montre clairement l'effet positif de ces extraits sur la croissance des microorganismes (Figure 5). En général, le traitement des sols avec l'extrait à [50%] stimule mieux la croissance des bactéries que l'extrait à [10%] pour les deux espèces algales.

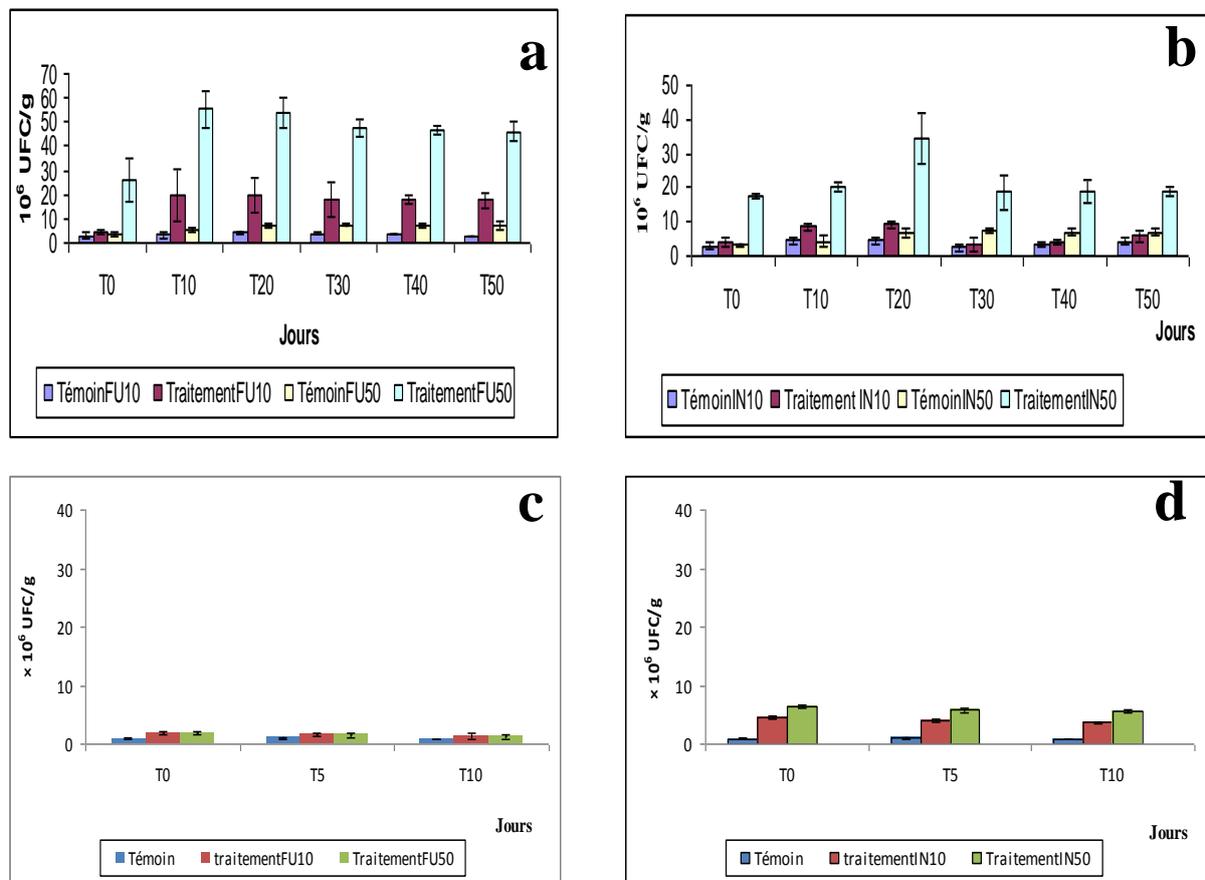
La densité bactérienne reste à peu près constante dans les témoins pendant toute la durée de l'expérimentation. La concentration des bactéries dans le sol agricole est supérieure à celle dans le mélange M1 (test ANOVA au risque de 5% durant le test. Ceci peut être expliqué par l'inhibition de la croissance des bactéries par les métaux dans le mélange M1 (Boularbah *et al.*, 1992 ; Abouddrar *et al.*, 2007).

Pour le sol agricole la biomasse microbienne la plus importante est notée 10 jours après ajout d'extrait algaux avec une moyenne de  $55,26 \cdot 10^6$  UFC/g du sol sec (Figure 5a) pour *Fucus spiralis* [50%] alors que la concentration des bactéries n'est que de  $34,13 \cdot 10^6$  UFC/g du sol sec 20 jours après addition de *Enteromorpha intestinalis* [50%] (Figure 5b). Ces valeurs sont supérieures à celles citées par Creswell *et al.*, (1992) et Powlson *et al.*, (2001) qui ont amendé les sols par des composts. Les résultats de la figure 5 montrent également que la biomasse bactérienne est encore plus importante dans le sol agricole amendé par les deux espèces par rapports au témoin.

Dans le mélange M1 (Figure 5c et Figure 5d), l'effet stimulant de la croissance des bactéries est également observé pour les deux espèces algales mais il est moins important que celui observé dans le sol agricole, Cependant, les résultats montrent une différence significative entre les échantillons traités par des extraits algaux et les échantillons non traités.

Les extraits algaux ont donc favorisé la croissance des microorganismes. Cette augmentation est plus marquée dans le sol agricole que dans le mélange M1, elle est probablement due à une dénaturation des protéines ou à la destruction de l'intégrité de la

membrane cellulaire par les métaux lourds affectent la croissance, la morphologie et le métabolisme de ces microorganismes (Boularbah *et al.*, 1992 ; Leita *et al.*, 1995). De nombreuses études montrent que la biomasse bactérienne d'un sol a tendance à diminuer suite à une contamination par un métal (Kandeler *et al.*, 1996 ; Smit *et al.*, 1997 ; Kelly *et al.*, 1999 ; Ekelund *et al.*, 2003).



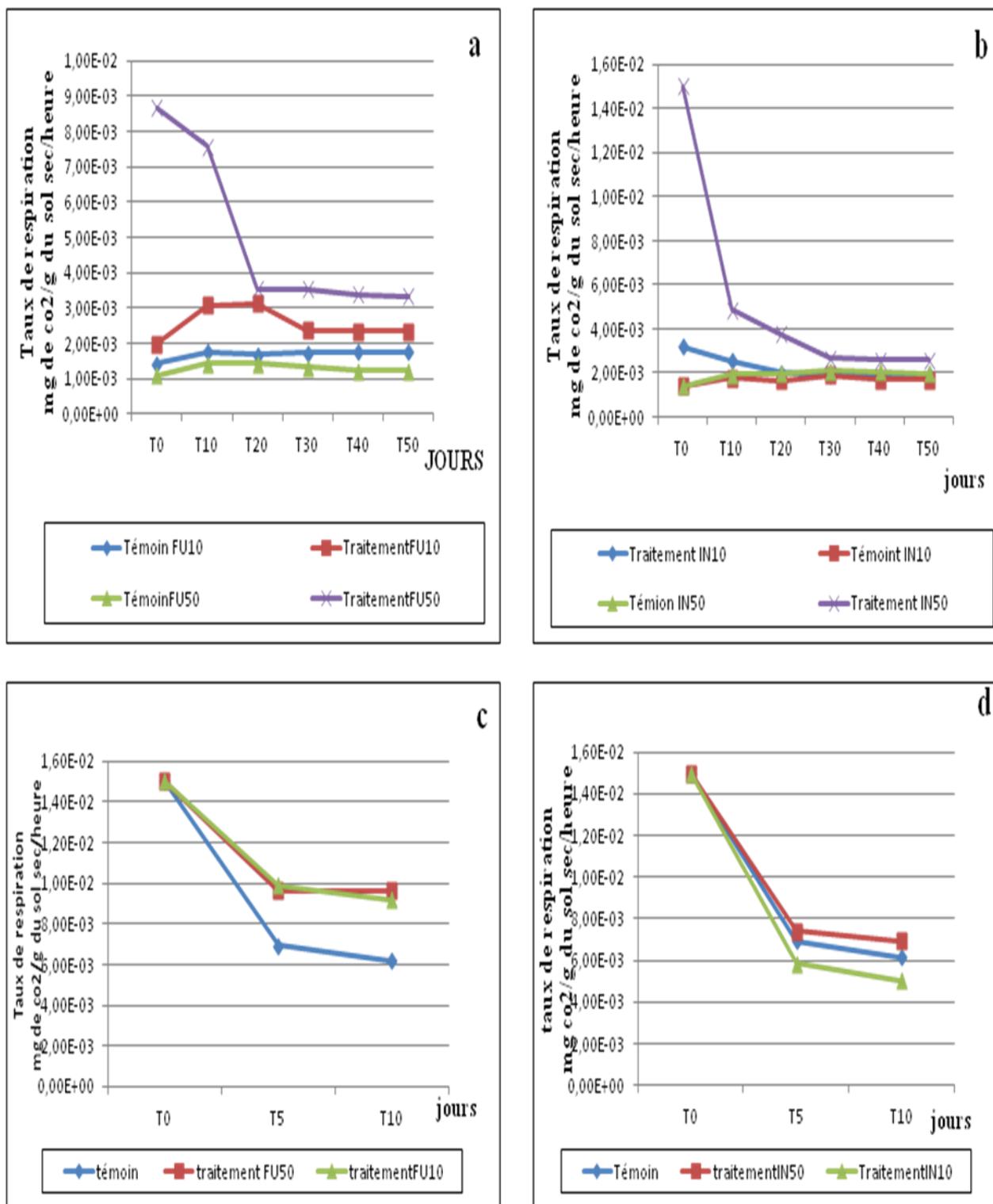
**Figure 5 : Effet des extraits algaux sur la croissance des bactéries.** (a) et (c) : Effet de *Fucus spiralis* sur le sol agricole et le mélange M1 respectivement ; (b) et (d) : Effet de *Enteromorpha intestinalis* sur le sol agricole et le mélange M1 respectivement.

## 2. L'influence des extraits algaux sur l'activité respiratoire

Nous avons mesuré l'effet des extraits algaux sur la respiration microbienne en déterminant la quantité de CO<sub>2</sub> produit par l'activité des microorganismes dans les terres étudiées. Les résultats montrent que cette activité est beaucoup plus importante dans le mélange M1 par rapport au sol agricole (Figure 6).

Dans le sol agricole, les observations sont sensiblement différentes ; le taux de respiration reste toujours supérieure à celui des témoins sans amendement, il atteint son optimum dès le premier jour de l'ajout des extraits avec  $8,48 \cdot 10^{-3}$ ,  $1,18 \cdot 10^{-2}$  et  $1,4 \cdot 10^{-3}$  mg de CO<sub>2</sub>/g du sol sec/heure produit suite à l'amendement du sol respectivement par les extraits à [50%] de *Fucus spiralis* (Figure 6a), [50%] et [10%] de *Enteromorpha intestinalis* (Figure 6b). Cette grande différence entre les valeurs obtenues à T<sub>0</sub> pourrait être expliquée par la minéralisation d'une grande proportion de la matière organique apportée par les extraits algaux après 24 heures d'incubation des échantillons.

Pour le mélange M1, à T<sub>0</sub> on constate qu'il n'y a pas d'effet d'extraits algaux sur la respiration des microorganismes quelque soit l'espèce et quelque soit la concentration utilisées, mais au bout de 5 jours, on constate qu'il ya une différence significativement positive pour l'espèce *Fucus spiralis* à deux concentrations ([10%], [50%]) (Figure 6c) et aussi pour l'espèce *Enteromorpha intestinalis* à une concentration de [50%] avec des valeurs comprises entre  $6,02 \cdot 10^{-3}$  et  $9,83 \cdot 10^{-3}$  mg de CO<sub>2</sub>/g du sol sec/heure (figure 6d).



**Figure 6 : Effet des extraits algaux sur la minéralisation des carbonnes.** (a) et (c) : Effet de *Fucus spiralis* sur le sol agricole et le mélange M1 respectivement ; (b) et (d) : Effet de *Enteromorpha intestinalis* sur le sol agricole et le mélange M1 respectivement

### 3. L'activité des déshydrogénase

La déshydrogénase est une enzyme intracellulaire qui est impliquée dans le métabolisme oxydoréductase des micro-organismes.

Dans les sols témoins, on constate qu'il y a une faible concentration de TPF produit par rapport à ceux traités, cette concentration ne change pas durant la période de l'expérimentation.

Dans le sol agricole amendé par *Fucus spiralis* [50%] (figure 7a), l'activité des déshydrogénases atteint son optimum 20 jours après l'ajout de l'extrait ( $1,2 \cdot 10^{-2}$  mg TPF/g du sol sec/heure) alors que ceux traité par *Fucus spiralis* [10%] (figure 7a) présente une valeur de ( $2,52 \cdot 10^{-3}$  mg TPF/g du sol/heure), par la suite elle subit une diminution.

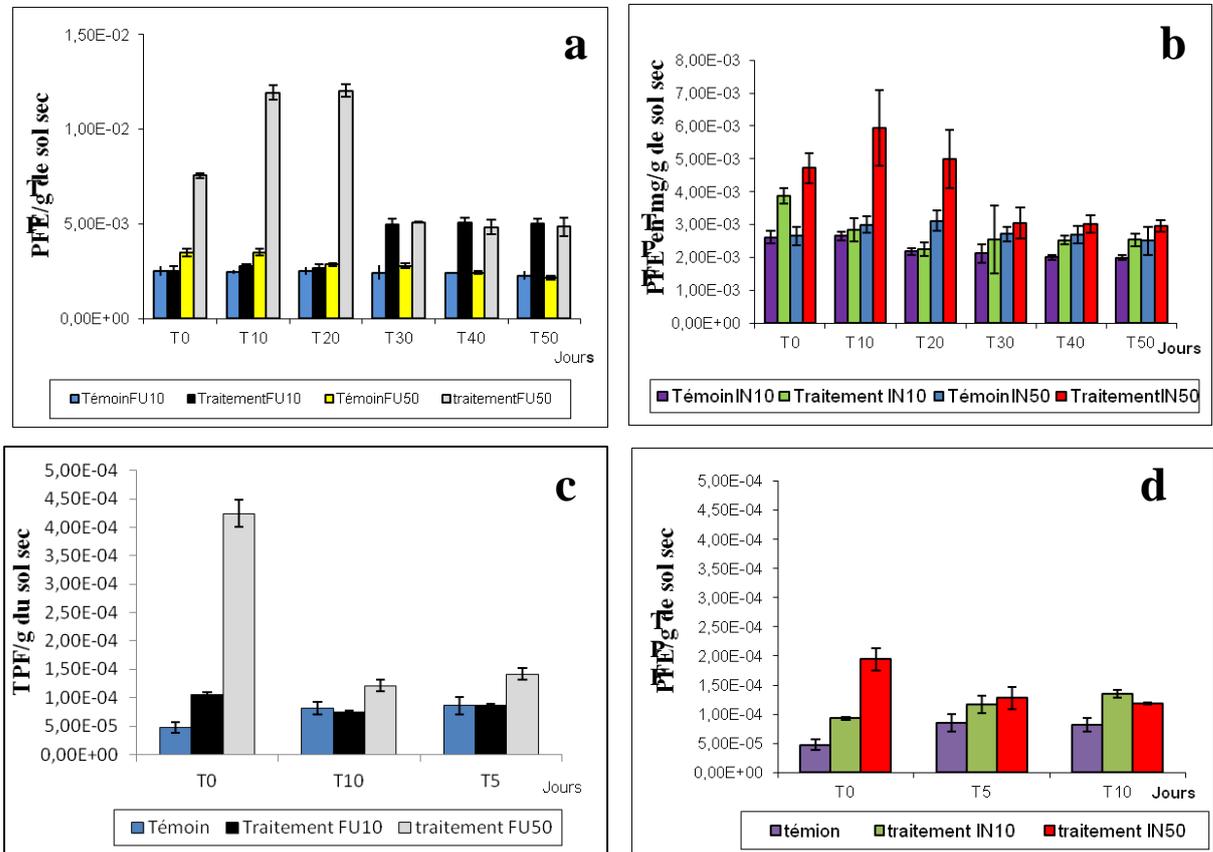
L'amendement de même sol avec *Enteromorpha intestinalis* (figure 7b) présente un effet remarquable avec  $5,94 \cdot 10^{-3}$  mg TPF/g du sol sec/heure produit pour amendement de [50%], alors qu'il est de  $3,86 \cdot 10^{-3}$  mg TPF/g du sol sec/heure à une concentration de [10%] (figure 7b).

L'activité de déshydrogénase diminue significativement au bout du 5 jours dans le mélange M1 pour *Fucus spiralis* (figure 7c) à différentes concentrations et aussi pour *Enteromorpha intestinalis* [50%] (figure 7d). À l'inverse cette activité augmente significativement pour *Enteromorpha intestinalis* [10%] de  $8,63 \cdot 10^{-4}$  mgTPF/g à  $11,7 \cdot 10^{-4}$  jusqu'à  $13,6 \cdot 10^{-4}$  mgTPF/g du sol sec/heure après 10 jours de l'ajout d'extraits algaux (figure 7d).

De plus, l'activité des déshydrogénases semble dépendre de la nature des sols, car elle est plus élevée dans le sol agricole que le mélange M1. Ceci pourrait être expliqué par l'effet néfaste des métaux lourds sur les activités enzymatiques du sol et en particulier l'activité des déshydrogénase comme il a été montré par de nombreux auteurs (Doelman et Haanstra, 1979; Kelly et Tate, 1998 ; Kelly et *al.*, 1999 ; Landi et *al.*, 2000 ; Renella et *al.*, 2003).

Nos résultats montrent clairement que les extraits algaux ont un effet important sur l'activité des déshydrogénases, cet effet est plus remarquable pour *Fucus spiralis* à une concentration de [50%].

D'après les résultats précédents, on constate qu'il ya une corrélation entre les variations de l'activité des déshydrogénases et celles de leur population bactérienne, cette relation est plus marquée pour *Fucus spiralis* [50%] et *Enteromorpha intestinalis* [50%].



**Figure 7: Effet des extraits algaux l'activité de déshydrogénase.** (a) et (c) : Effet de *Fucus spiralis* sur le sol agricole et le mélange M1 respectivement ; (b) et (d) : Effet de *Enteromorpha intestinalis* sur le sol agricole et le mélange M1 respectivement.

### III. Test de germination

Dans l'objectif d'évaluer l'effet des extraits algaux sur la germination des graines des plantes, nous avons testé la capacité de ces extraits sur la germination d'orge (Tamlalt) connues comme culture principale dans la zone de la région de Marrakech.

En comparaison avec le témoin non amendé par les extraits algaux, on constate une augmentation du taux de germination au niveau du sol agricole pour les deux espèces d'algues à différentes concentrations utilisées avec un effet remarquable pour la concentration [50%] (Tableau 2). Le sol minier montre un taux de germination élevé avec un maximum pour *Fucus spiralis* [10%] (38,85%), suivi de la même espèce à la concentration [50%] alors qu'il est de 0% pour *Enteromorpha intestinalis* [50%].

Les mélanges M1 et M2 donnent des meilleurs taux de germination pour *Fucus spiralis* [50%] ce qui peut être expliqué dans un premier temps par l'ajout du sol agricole déjà fertilisé et l'effet de l'extrait de cette espèce.

**Tableau 2 :** L'effet des extraits algaux sur la germination des graines d'orges sur différents types de sol.

% de germination de l'Orge				
	Sol agricole	Sol minier	Mélange M1	Mélange M2
<b>*Fu [10%]</b>	50±0	38,85±7,84	55,5±0	61,05±7,9
<b>*Fu [50%]</b>	61,05±23,54	30±14,1	88,8±0	83,85±8,69
<b>**IN [10%]</b>	50±14,1	10±14,1	55±7,07	60±0
<b>**IN [50%]</b>	61±23,05	0	72,15±7,8	49,95±7,8
<b>Témoin</b>	35±7,07	15±7	60±0	60±0

**\*Fu** : *Fucus spiralis*

**\*\*IN** : *Enteromorpha intestinalis*

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Lors de ce travail, l'effet des extraits algaux sur les terres étudiées a été clairement démontré.

La comparaison du nombre de bactéries exprimé en UFC par gramme du sol dans la terre agricole et le sol M1 a montré une réduction de la densité bactérienne dans ce dernier confirmant l'effet toxique des métaux, alors que dans le sol agricole cette densité augmente et elle est plus marquée dans ceux traités par *Fucus spiralis* et *Enteromorpha intestinalis* (concentration [50%]).

L'existence d'un effet fertilisant a pu également être confirmé par la mesure de la quantité de CO<sub>2</sub> produit lors de la respiration dans les sols traités et non traités. Nos résultats montrent que les échantillons témoins présentent un faible taux de respiration par rapport à ceux amendés par les extraits algaux, ces résultats varient en fonction de chaque concentration et aussi en fonction de temps.

Le suivi de l'activité enzymatique lors de chaque prélèvement a permis de constater que les extraits algaux ont un effet très important sur l'activité des déshydrogénases, cet effet dépend :

- De la nature du sol, car elle est plus importante dans le sol agricole.
- Et aussi de la concentration des deux espèces étudiées et du facteur du temps.

Le test de germination montre que les extraits algaux stimulent la germination des graines d'orges.

D'après ce qui précède, on peut dire que les extraits algaux des espèces *Fucus spiralis* [50%] et *Enteromorpha intestinalis* [50%] sont les plus efficaces pour améliorer la fertilité et le fonctionnement biologique du sol.

En tenant compte des résultats obtenus dans ce travail, les aspects suivants méritent des études supplémentaires et un approfondissement :

- Tester l'effet des extraits algaux sur la croissance et la diversité d'autres microorganismes : les champignons et les actinomycètes.
- Evaluer le rôle des amendements par des extraits algaux en mesurant le pH avant et après l'ajout de ces extraits.
- Tester les algues comme fertilisant sous formes d'extraits sec (broyats des algues).
- Etudier l'effet d'amendement des sols sur la croissance des plantes.

## ***REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES***

**Aboudrar W., Schwartz C., Benizi E., Morel J.L. and Boularbah A., 2007.** Soil Microbial diversity as affected by rhizosphere of the hyperaccumulator *Thlaspi Caerulescens* Under natural conditions. *International Journal of Phytoremediation*, 9,41-52.

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

**Aubert G., 1978.** *Methods d'analyses des sols*. Edition C.R.D.P., Marseille,360p.

**Alkorta I., Hernandez-Allica J., Becerril J.M., Amezaga I., Albizu I. et Garbisu C., 2004.** Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead and arsenic. *Environ. Sci. Biotechnol.* 3,71-90. Ames B.N., Shigensaga

**Aubert, G., Boulaine, J., 1980.** *La pédologie*. Paris, Presses universitaires de France, 127p.

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

**Baize D., et Sterckeman T., 2001:** Of the necessity of knowledge of the natural pedogeochemical background content in the evaluation of the contamination of soils by trace elements. *Sci. Tot. Environ.* 264,127-139.

**Bennamara, A., Abouriche., M. Charrouf, N. Chaib, M. boudouma., F.X.Ganeau., 1999.** Methoxybifurcanone : an antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *cystoseira tamariscifolia*. *Phytoche.*52,37-40.

**Bitton G., Boularbah A., Ouhammou A. and Morel J.L., 2001.** Heavy metal Contamination resulting from an abandoned mine in the vicinity of Marrakech, Morocco. Presented at 11 th Annual Meeting of SEAC 2001, 6-10 may, Madrid, Spain.

**Boularbah A., Morel J.L. and Gucker A., 1992.** Cadmium biosorption and toxicity to six cadmium resistant gram positive bacteria isolated from contaminated soil. *Appl Environ Toxicol And WaterQual*, 7,237-246.

**Boularbah A., Schwartz C., Aboudrar W., Ouhammou A., Bitton G. and Morel J.L.,2002.** Biotests pour détermination rapide de plantes accumulatrices ou hyperaccumulatrices de métaux. Communication présentée une 2ème colloque de GMRE, Marrakech du 29 au 31 mai 2002.

**Boularbah A., Schwartz C., Bitton G., and Morel J.L., 2006a.** Heavy metal Contamination from mining sites in South Morocco: 1. Use of a biotest to assess metal Toxicity of tailings and soils. *Chemosphere*, 63,802-810.

**Boularbah A., Schwartz C., Bitton G., Aboudrar W., Ouhammou A. and Morel J.L., 2006b.** Heavy metal Contamination from mining sites in South Morocco: 2 Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. *Chemosphere*, 63,811-817.

**Cihacek LJ, Ulmer MG, 1995.** Estimated soil organic carbon losses from long-term crop-fallow in the northern Great Plains of the USA. In : *Advances in soil science: Soil management and greenhouse effect.* (eds R Lal et al.), pp. 85-92. Lewis publishers, CRC Press, Boca Raton, Fl.

**Del val, C., Barea, J.M., Azcon-aguilar, C. 1999.** Diversity of Arbuscular Mycorrhizal fungus populations in heavy metal contaminated soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 65,718–723.

**Doelman, P., Haanstra, L. 1979.** Effect of lead on soil respiration and dehydrogenase activity. *Soil Biol. Biochem.* 11, 475-479.

**Dubikova, M., Cambier, P., Sucha, V. and Caaplovicova, M. 2002.** Experimental soil acidification. *Applied Geochemistry*, 17,245-257.

**El Khalil H., El Hamiani O., Bitton G., Ouazzani N. and Boularbah A., 2008.** Heavy Metal Contamination from mining sites in South Morocco: Monitoring metal content and Toxicity of soil runoff and groundwater. *Environmental Monitoring and Assessment*, 136, 147-160.

**Ekalund, F., Olsson, S., and Johansen, A. 2003.** Changes in the succession and diversity of protozoan and microbial populations in soil spiked with a range of copper concentrations. *Soil Biol. Biochem.*, 35, 1507-1516.

**Fuller, R.W., H.J.H. Cardillina , Y. Koto , L.S. Brinen, J. Snader, M.R . Boyd, 1992.** pentathologenated monoterapene from the red alga protiera hanemannii produces a novel cytotoxicity profile a divers panelof human cell lines *J.med .chem.*35,3007-3011

**Gadd, J.M. 2000.** Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. Raskin. I and Ensley. B.D., John Wiley & Sons, Inc, New York, 30  
**Garyal, P., 1975.** les algues : morphologie , cytologies , reproduction et écologie.

**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, 1389-1414.

**Guitttony-Larcheveque, M. 2004.** Valorisation d'un compost de boues urbaines en garrigue pour le reboisement : Comportement des jeunes arbres d'une plantation et modifications de la dynamique de la végétation naturelle après amendement, Thèse de Doctorat, Université Paul Cezanne, 227p.

**Haanstra, L. and Doelman, P. 1991.** An ecological dose-response model approach to short and long-term effects of heavy metals on arylsulphatase activity in soil. *Biol. Fert. Soils* 11, 18-23.

**Hakkou R., Benzaazoua M. and Bussière B., 2005.** Environmental characterization of the abandoned Kettara mines wastes (Morocco). Post Mining Symposia, Nancy (France), GISOS, 16-18 November 2005

**Hattori, H. 1992.** Influence of heavy metals on soil microbial activities. *Soil Sci. Plant Nutr.* 38, 93-100.

**Heinz, A. H., 1979.** marine algae and their product and constituents in pharmacy. In (H.A. Hoppe, T. leving, Y. tanaka eds) *marine algae in pharmaceutical science*. walter de gruyter, berlin, New York .25-119.

**Hibti, M., Bouabdelli, M., Mouttaqi, A., Sagon, J.P. 1999.** L'effet du métamorphisme sur les minéralisations sulfurées de la province hercynienne (Meseta sud occidentale, Maroc). Exemple des gisements sulfurés de Hajjar et de Kettara. *Chrom. Rech*, 536-537, 23-37.

**Kandeler, E., Kampichler, C., and Horak, O. (1996).** Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Boil. Fertil. of Soils* 23, 299-309.

**Kamat, S.Y., S.Wahidulla, I. Dsonza, G.G. Ambiyé, V. ambiya, D.S Bhakuni, A.K.Goel, H.S. Gorg, R.C. Srimal., 1992.** bioactivity of marine organisms VI. Antiviral evolution of marine algal extracts from indian coast. *Bot. Mar.* 35 :161-164.

**Kelly, J.J., Tate, R.L. 1998.** Effects of heavy metal contamination and remediation on soil microbial communities in the vicinity of a zinc smelter. *J. Environ. Qual.* 27, 609-617.

**Kelly, J.J., Häggblom, M., Tate III R.L. 1999.** Changes in soil microbial communities over time resulting from one time application of zinc: a laboratory microcosm study. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1445-1465.

**Kohen, F.E., S.P. Gunasekera, L. Niel., S.S. Cross, 1991.** Halitenal, an unusual diterpene aldehyde from the marine alga *Halimeda tuna*. *tetrahedron lett.* 32, 169-172.

**Koller E., 2004 :** Traitement des pollutions industrielles, Ed Dunod, Paris, pp 424.

**Konopka, A., Zakharova, T., Bischoff, M., Olivier, L., Nakatsu, C., Turco, R.F. (1999).** Microbial biomass and activity in lead-contaminated soil. *Appl. Envir. Microbiol.* 65, 2256-2259.

**Ktari .L., M.Guyot., 1999.** A cytotoxic oxysterol from the marine alga *Padina pavonia* (L) thivy. *J. appl.phycol.* 1, 511-513.

**Kuperman, R.G., Carreiro, M.M. (1997).** Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 29,179-190.

**Landi, L., Renella, G., Moreno, J.L., Falchini, L., Nannipieri, P. 2000.** Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biol. Fertil. Soils* 32, 8- 16.

**Larsson E.H., Bornman J.F. et Asp H., 1998 :** Influence of UV-radiation and Cd<sup>2+</sup> on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. *J. Exp. Bot.* 323, 1031-1039.

**Leita, L., De Nobili, M., Muhlbachova, G., Mondini, C., Marchiol, L., and Zerbi, G. 1995.** Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation. *Biol. Fertil. Soils.* 19,103-108.

**Liu D., Jiang W., et Liu D., Jiang W. et Gao X., 2003/4 :** Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic. *Biol. Plant.* 47,79-83.

**Lunackova L., Sottnikova A., Masarovicova E., Lux A. et Stresko V., 2003/4 :** Comparison of cadmium effect on willow and poplar in response to different cultivation conditions. *Biol. Plant.* 47,403-411.

**N'Dayegamiye, A. et D.A. Angers. 1990.** Effets de l'apport prolongé de fumier de bovins sur quelques propriétés physiques et biologiques d'un loam limoneux Neubois sous culture de maïs. *Can. J. Soil Sci.* 70,259-262.

**Marschner H., 1995 :** Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London.

**Padimini,S.P., Rao .,S.M.Kamkara.,1986.** biological investigation on genus sargassum. Antifungal activity of fraction different species of sargassum. *Phy.kos.*25,6-11.

**Powlson D.S., Hirsch P.R., Brookes P.C. 2000.** The role of soil organisms in soil organic matter conservation in the tropic. *Nutrient cycling in Agrosystems* 61, 41-51.

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

**Renella, G., Mench, M., van der Lelie, D., Pietramellara, G., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Nannipieri, P. (2003).** Hydrolase activity, microbial biomass and community structure in long-term Cd-contaminated soils. *Soil Biol. Biochem.* 36, 443-451.

**Roberts D.R., Dumbroff E.B. et Thompson J.E., 1986** : Exogenous polyamines alter membrane fluidity in bean leaves- a basis for potential misinterpretation of their true physiological role. *Planta* 167,395-401.

**Robert, M. Et Juste, C. 1998.** Chapitre 1 : origine et distribution des éléments en traces dans les sols. In : Contamination des sols par des éléments en traces : les risques et leur gestion. Bourelier P. H. et J.B. (Eds), Lavoisier Tec & Doc, 1-65.

**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, 285-290.

**Sanita Di Toppi L. et Gabrielli R., 1999:** Response to cadmium in higher plants. *EnvironExp. Bot.* 41,105-130.

**Schmit-sirguy C., 2004.** Dynamique du Cd disponible du sol sous l'influence de L'hyperaccumulateur *Thlaspi Caerulescens*. Doctorat de l'institut National Polytechnique de Lorraine, 137p.

**Smith, E., Leeftang, P., and Wernars, K. 1997.** Detection of shifts in microbial community structure and diversity in soil caused by copper contamination using amplified ribosomal DNA restriction analysis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 23, 249-261.

**Valls, R .B. piovette, L.arhcuis., J.artaud., 1993.** linear diterpene wilt antimetabolic activity from the brown alga *bifurcaria bifurcata* *phytochem.*34,1585-1588.

