

## Réponses morpho-physiologiques et biochimiques de la plante du féverole (*Vicia faba. L*) dans le sol amendé par les margines de centrifugation, essai en pots

Abderrahmane YAAKOUBI<sup>1\*</sup>, Badia AGANCHICH<sup>1</sup>, Yasamine JAOUAD<sup>2</sup>, Abdelilah MEDDICH<sup>1</sup> et Said WAHBI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Département de Biologie, Laboratoire de Biotechnologie et Physiologie Végétale, BP 2390, Marrakech, Maroc

<sup>2</sup> University Cadi Ayyad, Faculty of Sciences Semlalia, Biology Department, Laboratory of Water Biodiversity and Climate Change (WaterBioDiCc), BP 2390, Marrakech, Maroc

(Reçu le 05 Février 2021 ; Accepté le 22 Avril 2021)

\* Correspondance, courriel : [elyaakoubiya@gmail.com](mailto:elyaakoubiya@gmail.com)

### Résumé

Bien que la valorisation des margines par épandage soit une solution agro-écologique durable aux nuisances environnementales causées par leur rejet incontrôlé, une réticence envers l'épandage demeure jusqu'à nos jours. Dans le but de contribuer à soulever cette ambiguïté, ce travail a été mené pour étudier la réponse des plants de féverole (*Vicia faba. L*) cultivés en pots et soumis à une application de margines à 4 doses (50, 100, 150 et 200 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) contre un témoin après 75 jours d'incubation. L'essai a été conduit sous serre et le repiquage des plantules en pots ne s'effectue qu'après 21 jours de l'épandage des margines. Les analyses ont porté sur la biomasse, la conductance stomatique, la fluorescence, les pigments chlorophylliens et les sucres solubles de la plante étudiée. Les résultats obtenus ont montré que la dose 50 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> de margines a amélioré de manière significative ( $P \leq 0,05$ ) tous les paramètres évalués des plants traités par rapport aux plants témoin. Tandis que les plants traités avec 100 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> ont répondu de la même manière que témoin. Mais, au-delà de cette dose, la plante s'adapte au stress margines en développant davantage sa rhizosphère que sa pousse et en synthétisant des sucres solubles pour réduire leur effet phytotoxique. Par conséquent, la dose 50 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> est la plus adaptée au développement de la plante testée. Elle pourrait être recommandée pour un bon rendement de la fève.

**Mots-clés :** *margines, vicia faba. L, épandage, phytotoxique.*

### Abstract

**Morpho-physiological and biochemical responses of bean plant (*Vicia faba. L*) in soil amended by Olive Mill Wastewater (OMW) of the 3-phase system ( test in pots)**

Although OMW reclamation by land application is a sustainable agro-ecological solution to the environmental nuisance caused by its uncontrolled discharge, a reluctance towards land application remains to this day. In

an effort to help resolve this ambiguity, this work was conducted to study the response of pot-grown faba bean (*Vicia faba. L*) plants subjected to an application of OMW at 4 rates (50, 100, 150, and 200 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) versus a control after 75 days of incubation. The trial was conducted in a greenhouse and the transplanting of the seedlings into pots was carried out only after 21 days of the application of OMW. Analyses included biomass, stomatal conductance, fluorescence, chlorophyll pigments and soluble sugars of the study plant. The results obtained showed that the 50 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> dose of OMW significantly ( $P \leq 0.05$ ) improved all evaluated parameters of treated plants compared to control plants. While the plants treated with 100 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> responded in the same way as the control. But, beyond this dose, the plant adapts to the stress of OMW by developing its rhizosphere more than its shoot and by synthesizing soluble sugars to reduce their phytotoxic effect. Therefore, the rate of 50 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> is the most adapted to the development of the tested plant. It could be recommended for a good yield of the bean.

**Keywords :** *Olive Mill Wastewater, vicia faba. L, spreading, phytotoxic.*

## 1. Introduction

Le procédé d'extraction d'huile d'olive (système continu à 3 phases) génère une grande quantité des rejets liquides « les margines », appelés aussi « Olive Mill Wastewater (OMW) », qui est un sous-produit de l'huile d'olive. Lors de la production de l'huile d'olive, une quantité importante des eaux usées (OMW) estimées à environ 580 000 m<sup>3</sup> et 30 millions de m<sup>3</sup> sont générées respectivement au Maroc et dans le monde [1, 2]. Elles sont caractérisées par leur charge organique polluante et leurs propriétés phytotoxiques; ce qui constituent de sérieux problèmes pour leur évacuation dans le milieu naturel [3, 4]. Les propriétés phytotoxiques et antimicrobiennes de OMW ont fait l'objet de nombreuses recherches et sont associés à la présence de composés phénoliques, de pH acide, de salinité élevée et d'acides gras libres [5, 6]. Malgré leur nature polluante, la richesse des OMW en eau (83-94 %), en matière organique (4-15 %) et en matière minérale (0,4-2,5 %), fait de ces déchets un engrais pour le sol à faible coût, ainsi qu'une source d'eau d'irrigation dans les pays méditerranéens souffrant d'un déficit en eau et de la dégradation des sols [1, 4, 7]. De nos jours et face à l'absence d'alternative de dépollution/valorisation de ces biodéchets (OMW), l'élimination incontrôlée des OMW pose un problème environnemental majeur dans les pays méditerranéens producteurs d'huile d'olive [8]. Ainsi, de nombreux chercheurs ont conclu que l'épandage des OMW sur les sols agricoles pouvait être une approche réussie de la valorisation des OMW si l'épandage est effectué dans des conditions contrôlées et avec des doses appropriées [4, 7, 9 - 11]. En effet, les OMW d'olives peuvent être utilisées comme biofertilisant organique jusqu'à 100 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> sur un sol alcalin toutes les deux à trois années [1, 6, 12].

De plus, les composés phénoliques apportés par les OMW lors de l'épandage ont été dégradés au cours du deuxième mois après l'épandage, sauf dans le cas d'épandage massif (300 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) contre indiqué pour la nutrition des plantes [13]. L'apport de OMW induit également une amélioration intéressante de la microflore du sol suite à l'enrichissement ce celle-ci en matière organique et en sel minéraux, et elle devient capable de décomposer les éléments phytotoxiques tels que les polyphénols [13, 14]. En outre, La marge, si elle est diluée, peut être considérée comme un engrais valable et une solution écologique et économique intéressante dans les pépinières d'oliviers [15]. D'autres études sur la valorisation des margines ont montré également que l'utilisation des margines a des effets bénéfiques à la fois pour les cultures et pour les sols d'accueil [9, 16]: Un apport modéré de 50 à 100 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> ne semble pas présenter de risques de pollution du milieu, mais se traduit au contraire, par une amélioration de la fertilité du sol, de la croissance et de la production des végétaux (accroissements de 30 à 90 %). L'utilisation des OMW comme amendement organique du sol

constitue donc une alternative prometteuse pour améliorer la fertilité du sol [1, 17 - 20]. Bien que certains chercheurs notaient une amélioration de la microflore du sol et un effet favorable sur la croissance des plantes lors de l'épandage des margines, une réticence envers l'épandage, demeure jusqu'à nos jours, pour des craintes d'éventuelles incidences microbiologiques négatives sur le sol et phytotoxiques. Dans le but de contribuer à soulever l'ambiguïté qui a dû résulter des avis souvent controversés envers la valorisation agricole des margines, et de déterminer les niveaux seuils pour l'application des OMW en agriculture, ce travail a été mené au niveau des pots sous serre. En comparaison avec un sol non traité aux margines (témoin), les effets de l'épandage de OMW à 50, 100, 150 et 200 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> sur certains paramètres morpho-physiologiques (biomasse, conductance stomatique et fluorescence) et biochimiques (pigments chlorophylliens et sucres solubles totaux) des plants de féverole (*Vicia faba* L.) ont été étudiés, après 75 jours d'incubation en serre, au niveau des pots remplis d'un sol homogène de texture limoneux sableuse. Cette étude consiste à suivre le comportement de la fève (*Vicia faba* L.) face au stress de margines. Cette plante est utilisée comme modèle dans les études éco-toxicologiques grâce à sa biomasse importante et à son cycle végétatif court.

## 2. Matériel et méthodes

### 2-1. Origine, échantillonnage et caractérisation des margines

Les échantillons de OMW ont été prélevés au niveau d'une huilerie d'olive (système continu à 3 phases, variété picholine marocaine), située dans la ville d'El Attaouia, province EL Kelaa Sraghnas, région Marrakech - Safi, Maroc, en pleine campagne oléicole (2018-20019). Les échantillons étaient prélevés à partir du bassin de stockage de OMW (temps de séjour : 15 jours) après leur homogénéisation, et obtenu sans modification de leurs caractéristiques. Elles sont acheminées au laboratoire pour les analyses. Les analyses physico-chimiques des OMW utilisées sont indiquées dans le **Tableau 1**. Le pH a été mesuré au moyen d'un pH mètre de type HANNA modèle HI 2209. La conductivité électrique (CE) a été mesuré à l'aide d'un conductimètre de type HANNA modèle EC 215. Les matières en suspension (MES) sont déterminées par filtration sur des membranes à 0,45 µm de diamètre de pore, La teneur en MES est déterminée par différence de poids du filtre avant et après filtration et séchage à l'étuve à 105 °C pendant 24h. La matière sèche totale (MST) a été déterminée après séchage à 105 °C pendant 24 heures. La matière organique MO et la matière minérale (MM) ont été estimées après calcination à 550 C pendant 24 heures. Le carbone organique total (COT) est acquise comme suit : % COT = % MO/1,72. Le dosage des composés phénoliques a été effectué avec la méthode de Folin- Ciocalteu [21], et une lecture de la densité optique par spectrophotométrie à 760 nm. La teneur de la OMW en azote total (NT) se fait par la méthode de Kjeldhal qui consiste en une minéralisation de l'échantillon à chaud avec l'acide sulfurique concentré et le catalyseur (Cu) (6,25 % en CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O).

Après ajout de la soude sur le produit de la minéralisation qui libère l'azote sous forme d'ammoniac, celui-ci est entraîné à la vapeur et piégé dans l'acide borique puis titré avec l'acide chlorhydrique. Le phosphore total (PT) a été dosé suivant la méthode de spectrométrie d'absorption moléculaire selon le protocole AFNOR, (T90-023). Les éléments minéraux (K, Ca, Mg et Na) ont été dosés par spectrophotométrie d'émission de flamme (appareil type JENWAY PFP7). Les chlorures (Cl<sup>-</sup>) sont déterminés selon la norme (AFNOR T90-014) et dosés par la méthode de titrimétrie de Mohr avec le nitrate d'argent et les chromates de potassium. L'Huile résiduelle (HR) contenue dans la matière sèche des OMW a été déterminée par l'hexane à une température de 40 à 60 °C au moyen d'un appareil de Soxhlet. Les fractions des éléments métalliques contenus dans les OMW ont été lues à l'aide d'ICP-AES (*Ultima 2*) au Centre Reminex pour la recherche et développement, localisé à Geummassa, province Tahannaout, région Marrakech Safi. Une prise d'essai est digérée avec de l'acide

nitrique ( $\text{HNO}_3$ ) à une température de  $103^\circ\text{C}$  pendant 30 min, les solutions obtenues sont transférées dans une fiole de 50 ml et complétées avec de l'eau distillé pour l'analyser par ICP-AES. Les paramètres des analyses par ICP-AES ULTIMA 2c sont : Instrument : ULTIMA 2C HORIBA; Chambre : Cyclonique ; Puissance : 1200 Watt ; Optiques :  $\lambda$ : 160 - 800 nm ; Détecteur : High Dynamic Detector (HDD); Nébuliseur : Meinhard Type CI ; Gaz plasmagène : 14 l/mn ; Gaz de gainage : 3 l/mn G2 ; Temps de rinçage : 30 sec et Temps d'intégration : 5 secs.

**Tableau 1 :** Caractérisation physicochimique des margines stockées dans le bassin

Paramètres physico-chimiques		Unités	OMW $\pm$ ET						
pH		-	4,46 $\pm$ 0,12						
CE		(mS cm <sup>-1</sup> )	6,70 $\pm$ 0,25						
MES		(g/L)	1,77 $\pm$ 0,5						
MST		(g/L)	41,26 $\pm$ 1,1						
MM		(g/L)	14,36 $\pm$ 0,7						
MO		(g/L)	26,35 $\pm$ 1,4						
COT		(g/L)	15,28 $\pm$ 1,2						
NTK		(g/L)	0,43 $\pm$ 0,28						
Carbone/Nitrogène		-	35,53 $\pm$ 0,5						
PT		(g/L)	0,63 $\pm$ 0,12						
K		(g/L)	5,97 $\pm$ 0,34						
Cl		(g/L)	0,55 $\pm$ 0,25						
Na		(g/L)	0,47 $\pm$ 0,34						
Ca		(g/L)	0,73 $\pm$ 0,52						
Mg		(g/L)	0,42 $\pm$ 0,03						
HR		(%)	0,28 $\pm$ 0,03						
PPT		(g d'acide caféique/L)	2,59 $\pm$ 0,80						
Métaux lourds (ppm)									
As	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Se	Zn
382	28	35	8	16	60	< 1	143	598	< 1

ET : Écart type. Chaque valeur représente la moyenne de 3 observations indépendantes.

## 2-2. Eau du puits utilisée

L'eau du puits utilisée est caractérisée par un pH légèrement alcalin (7,58), une conductivité électrique faible (1,27 mS/cm) et une salinité faible (0,889 g/L).

## 2-3. Origine, échantillonnage et caractérisation du sol

Il s'agit d'un terrain agricole situé à 10 km de la ville de Marrakech. Il fait partie de la commune Essada, Région de Marrakech, Maroc. Ce terrain n'est pas planté de plus de 30 ans et n'a jamais fait l'objet d'aucun amendement ou engrais chimique. Pour le prélèvement de sol destiné aux analyses, nous avons opté pour 5 prélèvements au même site dans la couche entre 10 et 30 cm. Les échantillons de sol ont été séchés à l'air libre, homogénéisés, tamisés à 2 mm et ensachés pour analyses. Pour la granulométrie du sol étudié, les différentes classes granulométriques de la fraction minérale du sol ont été déterminées dans le **Tableau 2**. La destruction de la matière organique est effectuée par l'eau oxygénée ( $\text{H}_2\text{O}_2$  à 20V), puis la dispersion des argiles par l'hexamétaphosphate de sodium (50 g/L). Le sable a été récupéré par tamisage sous filet d'eau à 200  $\mu\text{m}$ . Les argiles et les limons sont classés par la méthode de la pipette de Robinson. Pour les analyses physico-chimiques du sol rapportées dans le **Tableau 2**, Le pH est mesuré par la méthode électrométrique à l'aide d'un pH-mètre et la conductivité est déterminée à l'aide d'un conductimètre sur un extrait aqueux au

1/5 du sol. Le carbone organique total est dosé par la méthode d'oxydation de la matière organique à froid par un excès de bichromate de potassium  $K_2Cr_2O_7$  en présence de l'acide sulfurique concentré conformément au protocole d'Anne. Pour le calcaire total, nous avons adopté le principe de la méthode de solubilisation des carbonates de calcium ( $CaCO_3$ ) par l'attaque d'acide (HCl) et par la suite, la mesure du volume de  $CO_2$  dégagé, à l'aide du calcimètre de Bernard. La mesure de l'azote total est basée sur la transformation de l'azote organique en azote ammoniacal. L'échantillon subit une minéralisation par l'acide sulfurique concentré en présence du catalyseur Kjeldahl, puis l'Ammoniac formé est déplacé par NaOH (40 %). Ensuite, l'Ammoniac entraîné par la vapeur d'eau est fixé par l'acide borique et titré avec l'acide sulfurique. Le dosage du phosphore assimilable est réalisé selon la méthode d'Olsen qui extrait les orthophosphates par une solution de bicarbonate de sodium. Le dosage du phosphore est réalisé par colorimétrie basée sur la formation et la réduction d'un complexe phosphomolybdique qui s'accompagne d'une coloration bleue mesurée au spectrophotomètre à 820 nm. Pour les autres éléments minéraux et les métaux spécifiques des sols prospectés notamment le K, Ca, Na, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, Al, Cd, Ni, B et le Pb, ils ont été mesurés par un analyseur XRF portable Delta équipé d'étalonnages spécialisés pour le mode sol en précisant les concentrations de ces éléments identifiés (**Tableau 2**).

**Tableau 2 :** *Caractérisation granulométrique et physico-chimique du sol utilisé*

Granulométrie (Couche: 10 - 30 cm)								
Sable %	57,66							
Limon %	26,34							
Argile %	16,00							
Paramètres physico-chimiques								
pH	Sol témoin (Sc) ± ET							
	8.6 ± 0.5							
CE (mS cm <sup>-1</sup> )	0,190 ± 1							
MO (g kg <sup>-1</sup> MS)	10,00 ± 0.05							
COT (g kg <sup>-1</sup> MS)	5,8 ± 0.01							
NT (g kg <sup>-1</sup> MS)	0,84 ± 0.2							
C/N	6,90							
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (g kg <sup>-1</sup> MS)	0,01 ± 0.05							
K <sub>2</sub> O ((g kg <sup>-1</sup> MS)	0,129 ± 0.05							
Ca (mg kg <sup>-1</sup> )	109 ± 1.25							
Na (mg kg <sup>-1</sup> )	27 ± 0.13							
Mg (mg kg <sup>-1</sup> )	62 ± 0.5							
Calcaire total en % de CaCO <sub>3</sub>	5,58 ± 0.2							
Métaux lourds ( ppm)								
Al	Pb	Cd	Ni	Cu	Fe	Mn	Zn	B
61	0,2	0,1	0,1	0,1	60	1,4	0,5	0,1

ET : Écart type. Chaque valeur représente la moyenne de 3 observations indépendantes.

#### 2-4. Matériel végétal utilisé

Au cours de notre essai, nous avons utilisés des graines de fêverole (*Vicia faba. L, variété:Alfia 5*) sèches en tant que matériel végétale. Le choix de cette espèce repose sur sa grande capacité de germination et l'importance de sa vitesse de croissance. Ces graines sont d'origine marocaine provenant de l'INRA de la Ville EL ATTAOUIA (Région Marrakech-Safi). Elles ont subi un prétraitement avec l'eau à 20 °C, pour adoucir et affaiblir la peau, permettant une germination plus facile et plus rapide.

## 2-5. Essai agronomique

Les échantillons de sol ont été bien homogénéisés, tamisé (2 mm), puis distribués dans des pots en plastique. Les pots utilisés ont 20 cm de diamètre et 20 cm de profondeur. Chaque pot a reçu 2,5 kg du sol et a été repiqué avec un jeune plant issu de la germination des graines en plateaux alvéolaires. Les margines ont été filtrées, homogénéisées et diluées avec l'eau du puits, puis épandues manuellement à l'aide d'un pulvérisateur sur le sol de chaque pot à des concentrations 25 % ; 50 % ; 75 % et 100 % à raison de 628 ml comme volume moyen (**Tableau 3**).

**Tableau 3 : Quantités de margines testées en tant qu'engrais pour fèves**

Traitements	OMW (ml pot <sup>-1</sup> )	Eau du puits ajoutée (ml pot <sup>-1</sup> )	OMW %	Equivalent de OMW en m <sup>3</sup> ha <sup>-1</sup>
Sc	0	628 ml	0	0
S50	157	471	25	50
S100	314	314	50	100
S150	471	157	75	150
S200	628	0	100	200

Les doses de OMW indiquées dans le **Tableau 3** sont calculés sur la base de surface des pots utilisés, depuis nous avons parlé des doses en m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>. Après l'épandage des OMW à des doses déterminées, les pots sont ramenés à la capacité au champ avec l'eau du puits avec une fréquence 1x/3 jour. Ces traitements ont été comparés à un sol des pots de contrôle pulvérisé seulement avec de l'eau du puits. L'expérimentation a été réalisée en six répétitions pour chaque traitement (soit 6 plants par lot de pots). L'essai est conduit sous une serre (température moyenne de 25,50°C ; humidité relative moyenne de 68,5 % et lumière de 410 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

## 2-6. Paramètres morphologiques

### 2-6-1. Hauteur de la tige et longueur de la racine

La hauteur de la plante et la longueur de la racine principale sont mesurées à l'aide d'une règle graduée, exprimée en centimètres (cm) (moyenne de 6 plantes par lot).

### 2-6-2. Nombre de folioles

Le nombre de folioles a été calculé sur la base de dix-huit feuilles à raison de trois feuilles/plant/traitement (soit 3 feuilles x 6 plants par lot).

### 2-6-3. Poids frais et le poids sec de la pousse et de la racine

Pour la détermination du poids frais de la pousse et de la racine, les plants sont coupés au collet pour séparer les racines de la partie aérienne. La matière sèche aérienne et racinaire des plants sont déterminées après passage à l'étuve à 80°C (pendant 48h) jusqu'à poids constant. Les pesées de la matière végétale séchée permettent l'estimation de la production végétale de *la variété* (en g poids secs/pot). Le rapport de la matière sèche aérienne sur la matière sèche racinaire est ainsi déterminé.

#### **2-6-4. Surface foliaire**

La surface foliaire (SF) est estimée selon la méthode de [22] qui consiste à placer la feuille sur papier calque, par la suite, à découper les contours de la feuille puis peser la partie de chaque représentant de la feuille (Pf), à déterminer par pesée le poids (Pq) correspondant à une surface (Sq) connue d'un carré de même papier calque et à déduire la surface de la feuille (Sf) par la **Formule** :

$$SF = \frac{Pf Sq}{Pq} \quad (1)$$

*Avec, Pf le poids du calque représentant la feuille exprimé en g, Sq la surface connue d'un carré du même papier utilisé exprimé en cm<sup>2</sup> et Pq le poids correspondant à la surface connue d'un carré exprimé en g.*

### **2-7. Paramètres physiologiques**

#### **2-7-1. Conductance stomatique (Gs)**

La mesure de la (Gs) a été faite sur des feuilles bien développées du même rang pour les différents traitements à l'aide d'un poromètre à diffusion (Leaf porometer, model SC1). Les mesures ont été effectuées sur la face inférieure de trois feuilles par plant, entre 10h et 12h. La conductance stomatique est déterminée sous une température de 28°C et une humidité relative d'environ 60 % et elle est exprimée en mmol de H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

#### **2-7-2. Fluorescence chlorophyllienne**

L'émission de la fluorescence chlorophyllienne a été mesurée à la surface supérieure des jeunes feuilles complètement développées des plants du même rang à l'aide d'un fluorimètre portatif (OS-30p+ OPTI-SCIENCES). L'émission de la fluorescence minimale (F0) et maximale (Fm) ont été mesurées sur les feuilles après 20 min d'adaptation à l'obscurité. Les rapports (Fv/Fm (Efficacité photochimique maximale de la photochimie PSII) et Fv/F0 (activité du PSII) ont été déterminés. Nous avons opté pour 18 mesures indépendantes par traitement (soit 3 mesures par plant).

### **2-8. Analyse Biochimique**

#### **2-8-1. Teneur en chlorophylle totale**

La teneur en chlorophylle totale a été mesurée sur des feuilles des plants à l'aide d'un détecteur de chlorophyll Meter (modèle SPAD 502, Minolta). Les mesures ont été réalisées le matin de 11h à 12h sur les deuxièmes et troisièmes feuilles à partir de l'apex des pousses et des moyennes ont été prises (C'est-à-dire 2 feuilles par plant, soit 12 feuilles par traitement).

#### **2-8-2. Dosage des sucres solubles**

Les mesures sont effectuées à la fin de l'essai sur l'avant dernière feuille. Trois mesures, en unité arbitraire, sont prises par plantule. Les sucres solubles totaux ont été estimés par la méthode de l'acide sulfurique phénolique [23]. Les mesures d'absorbances sont effectuées par spectrophotomètre à ultra-violet visible (UV) à une longueur d'ondes de 485 nm.

## 2-9. Analyse statistique

Les données mesurées ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur de classification, à l'aide d'un logiciel statistique XLSTAT (version 2019). Puis, si nécessaire, un classement des moyennes a été effectué à l'aide du test Tukey HSD. Ce test permet de compléter l'interprétation et d'identifier les groupes de moyennes homogènes. On considère que les résultats sont significatifs quand  $P \leq 0,05$ .

## 3. Résultats et discussion

### 3-1. Caractérisation physico-chimique des margines brutes

Les OMW brut utilisées dans ce travail proviennent d'un système d'extraction continu à trois phases. Les principaux paramètres physico-chimiques de ces effluents sont résumés dans le **Tableau 1**. Comme le montre ce tableau, les OMW ont un pH acide ( $\text{pH} = 4,46$ ), principalement en raison de leur richesse en acides organiques [7]. En outre, les OMW présentent une valeur élevée de conductivité électrique ( $\text{EC} = 6,7 \text{ mS cm}^{-1}$ ). Ce paramètre reflète la concentration importante en sels minéraux dissous et surtout aux ions potassium, chlorure, calcium et magnésium présents dans ces effluents [5, 24]. La concentration moyenne des chlorures (Cl) dans les OMW est relativement faible (0,55 g/L) par rapport à la norme de rejet dans le réseau d'assainissement (0,7 g/L) [9]. Les MES relevées (1,77 g/L) sont conformes aux normes (1 à 9 g/L) indiquées dans la littérature [25]. La MST est de l'ordre de 41 g/L dont la matière minérale (MM) et la matière organique (MO) sont de l'ordre de 14,36 g/L et 26,64 g/L respectivement. Ces résultats montrent que ces OMW sont caractérisées par une faible teneur en MO par rapport aux résultats cités en littérature [1, 25]. Ceci est dû essentiellement à la dilution des pâtes d'olives avec de l'eau chaude, requise par le système de centrifugation [17]. Par ailleurs, ces effluents présentent une forte teneur en potassium (5,97 g/L) et des concentrations relativement importantes en phosphore, calcium, magnésium et en sodium (0,63 g/L ; 0,73 g/L ; 0,42 g/L et 0,47 g/L respectivement). En effet, la teneur en matière minérale varie en fonction des conditions de conservation des olives, du système d'extraction, le degré de maturation, ainsi que la variété d'olives.

Cette richesse des OMW en éléments minéraux qui a poussé beaucoup de chercheurs d'orienter le traitement des OMW vers leur valorisation en fertilisant des terres agricoles. Ainsi, ces OMW ont une teneur en polyphénols inférieure à la celle indiquée dans la fourchette (3 g/L et 9 g/L) déterminée dans la littérature [25]. Ceci est dû plus particulièrement au partage des polyphénols au niveau de décanteur horizontal en trois phases, à la centrifugation que subit le mélange (huile-margines) pour séparer la phase aqueuse (OMW) de la phase huileuse et à leur dégradation dans le bassin de stockage. Ces margines sont caractérisées également par une teneur faible en huile résiduelle (HR) qui est de l'ordre de (0,28 %). Cette valeur faible peut être expliquée par la centrifugation des OMW à la fin du procédé d'extraction de l'huile d'olive. En outre, cet effluent est caractérisé par des teneurs assez faibles en métaux lourds (**Tableau 2**). Mais, ces valeurs demeurent dépendantes de la variété d'olive, de la durée de stockage des olives et du procédé d'extraction de l'huile d'olive. A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que les margines de centrifugation étudiées ne présentent probablement pas de problème sanitaire et hygiénique après leur décantation dans un bassin de stockage, et par conséquent, ne posent pas de danger sur les milieux récepteurs.

### 3-2. Caractérisation du sol utilisé

Le **Tableau 3** résume tous les paramètres granulométriques et les caractéristiques physico-chimiques du sol étudié. Selon le diagramme des textures du groupe d'étude des problèmes de pédologie appliquée (GEPPA), le sol utilisé est caractérisé par une texture limoneux-sableuse dont le sable qui prédomine. Les résultats



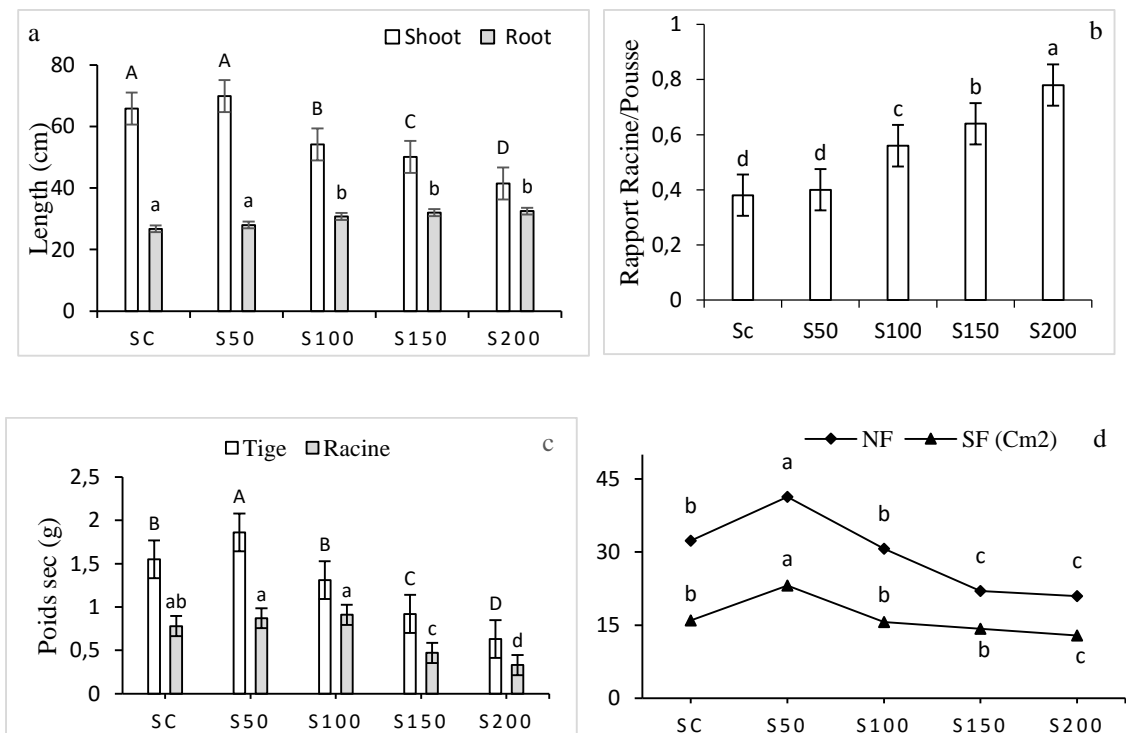
d'analyse physico-chimiques montrent que le sol étudié est modérément calcaire (5,58 %). Il est caractérisé par un pH alcalin (8,6) et une conductivité électrique (CE) faible. Elle est de l'ordre de  $190 \mu\text{S cm}^{-1}$ , ce qui signifie une carence en éléments minéraux. La teneur du sol en matière organique (OM), en phosphore assimilable ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) et en potassium ( $\text{K}_2\text{O}$ ) est également très faible (1 % MS; 0,01 et 0,129 g  $\text{kg}^{-1}$  respectivement), ce qui confirme que le sol analysé peut donc être considéré comme très pauvre en éléments minéraux essentiel à la croissance de la plante. Par ailleurs, on note que sa teneur en azote total (NT) est relativement moyenne (0,84 g  $\text{kg}^{-1}$  MS). Le rapport C/N fournit d'utiles indications sur l'évolution de la matière organique du sol. Le sol étudié a un rapport C/N faible (6,9), ce qui correspond à une activité biologique très importante. Les résultats des analyses des autres éléments minéraux et des éléments traces métalliques au niveau du sol montrent que les teneurs des éléments majeurs (l'aluminium, calcium, magnésium et fer) exprimées en ppm sont élevées dans le sol utilisé. Quant aux oligo-éléments, les teneurs en manganèse (Mn) et en zinc sont relativement élevées par rapport aux autres éléments dont leurs concentrations sont presque les mêmes. Mais, généralement, ces teneurs en éléments minéraux et en éléments traces métalliques restent très faibles par rapport aux besoins de la plante de féverole [26].

### 3-3. Étude des effets des OMW sur la croissance des plantes

Dans le but de connaître l'effet de l'épandage des OMW sur la croissance et la productivité de la plante de féverole (*Vicia faba L.*) cultivée sur un sol et ayant reçu un apport de OMW, nous avons procédé à l'évaluation de certains paramètres morpho-physiologiques et biochimiques (**Figures 1 - 3**). Comme révélé dans la **Figure 1a**, le sol irrigué avec des OMW à une dose de S50 a montré une augmentation remarquable de la hauteur des pousses par rapport à celle du sol témoin (Sc). Cette dose marque l'optimum de la croissance des plantes avec une moyenne de 69,93 cm comme hauteur maximale contre un Sc (65,83 cm). Les autres plants cultivés en sols S100, S150 et S200 ont connu une diminution progressive et significative de la hauteur foliaire par rapport au Sc. Ceci est confirmé par des études antérieures qui ont démontré que l'application des OMW à des doses élevées est phytotoxique [1, 19]. Par contre, la longueur des racines a subi une augmentation significative à partir de S100 jusqu'à S200. Pour la dose S50, la longueur de la racine est similaire avec celle de Sc. La **Figure 1b** illustre que le rapport (Racine/Pousse) des plants cultivés en sol S50 n'a enregistré aucune différence significative par rapport au Sc. Alors qu'au-delà de cette dose, ce rapport a connu une augmentation progressive et hautement significative avec l'augmentation des doses de OMW. Bien que la propagation de OMW ait modifié la biomasse des racines et des pousses, le rapport (racine/pousse) a augmenté. Cette augmentation a également été observé chez le pois chiches, l'haricot et le blé [27].

En effet, l'augmentation de ce rapport laisse penser que l'apport des margines à des concentrations élevées exerce un effet de stress sur la plante. Ce rapport reflète la capacité de la plante à développer davantage sa rhizosphère que sa partie aérienne. Ce développement dépend étroitement de l'environnement entourant le système racinaire et la disponibilité des nutriments [5, 27]. La **Figure 1c** montre que les plants cultivés dans des sols traités (S50) présentaient une augmentation significative de la productivité en biomasse sèche de la pousse par rapport aux plants Sc. On note aussi que les plants cultivés dans le sol S100 n'ont enregistré aucune différence significative par rapport au Sc. Pour la racine, la biomasse sèche des plants cultivés en sol S50 et S100 n'a subi aucune modification significative par rapport au Sc. Alors que pour les plants cultivés dans des sols S150 et S200, une diminution très significative de leur productivité, aussi bien pour la pousse que pour la racine, par rapport aux plants Sc a été enregistré. Ces résultats peuvent être expliqués par la teneur assez élevée en chlorures dans les OMW appliquées (**Tableau 1**), qui peuvent exercer des perturbations phytotoxiques et nutritionnelles sur les interactions de la plante avec le sol [28, 29]. De ce fait, l'apport des margines à des doses élevées semble avoir une incidence négative sur la productivité en

biomasse des plants de *vicia faba*. L. Concernant l'effet de OMW sur la croissance des feuilles, l'application de OMW conduit à une augmentation significative du nombre de folioles qui passe d'une valeur moyenne de 32 dans le sol Sc pour atteindre 41 folioles par plant dans le sol S50 (**Figure 1d**). Quant à la dose S100, la variété a réagi presque de la même manière que Sc. Alors que les plantes cultivées en sols traités (S150 et S200) ont montré le moins nombre de folioles et illustrent une diminution significative du nombre de folioles par rapport au Sc. L'effet de stress OMW ne se fait sentir que chez les plants cultivés en sols traités S150 et S200 où le nombre de folioles enregistre une baisse significative de l'ordre de 33 % et 50 % respectivement par rapport au Sc. Ce qui confirme l'effet toxique des OMW à des concentrations élevées pour les plants de féverole [19]. La (**Figure 1d**) montre que la surface foliaire (SF) moyenne, des plantes cultivées en sol traité avec la dose de  $50 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , a connu une augmentation considérable et significative par rapport au Sc, dont la valeur maximale est  $22,63 \text{ cm}^2$  contre un Sc ( $15,98 \text{ cm}^2$ ). Pour les doses 100 et  $150 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , la SF moyenne enregistrée n'a subi aucune différence significative avec celle de Sc. Une étude similaire de [19] montre également qu'aucune variation significative n'a été observée après l'analyse de la surface foliaire, bien que la valeur moyenne ait été plus élevée  $120 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ . Alors qu'à la dose  $200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , elle a connu une diminution significative et elle semble être sensible au stress OMW. Cette diminution est due au fait que les OMW à des doses élevées renferment une teneur assez élevée en plomb (Pb : 143 ppm) (**Tableau 2**), chose qui provoquerait un stress hydrique. De ce fait, nous rejoignons les résultats des [30] qui montrent que l'accumulation excessive de Pb dans les tissus est toxique pour la plupart des plantes, conduisant à des diminutions de la germination, de volume racinaire et de la biomasse. Ainsi, d'autres auteurs [9, 26, 31] ont prouvé également que la réduction de la SF (biomasse) est une des conséquences et/ou une des premières réactions des plantes au déficit hydrique et que la SF est un déterminisme important de la transpiration.

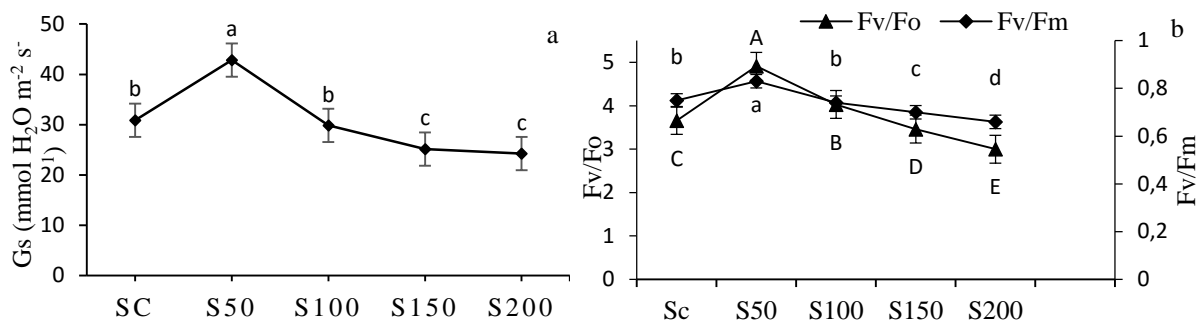


**Figure 1 :** Effet de OMW à différentes doses sur l'évolution de la hauteur de la pousse- longueur des racines (a), le rapport (racine/pousse) (b) le poids sec (c), le nombre de folioles par plant et la surface foliaire (d) des plants de *Vicia faba* L. cultivés dans le sol en pots après 75 jours d'incubation

Deux histogrammes portant des lettres différentes, ils sont significativement différents au seuil ( $p \leq 0,05$ ).

La **(Figure 2a)** montre que la conductance stomatique ( $G_s$ ) était significativement plus élevée dans les sols traités avec la dose  $50 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  que celle du Sc. A cette dose, elle atteint sa valeur maximale  $42,83 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  contre  $30,86 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  du Sc, dont le taux d'augmentation est de l'ordre de  $38,78 \%$  par rapport au Sc. Quant à la dose  $100 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  la  $G_s$  n'a enregistré aucune différence significative par rapport à celle du Sc. Alors qu'au-delà de cette dose, la  $G_s$  a subi une diminution significative par rapport au Sc, dont les taux de diminution sont de l'ordre de  $18,50 \%$  et  $21,42 \%$  respectivement pour  $150$  et  $200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  par rapport au Sc. Cette diminution de la  $G_s$  est due au fait que l'approvisionnement de OMW à haute concentration sur le sol a entraîné un stress hydrique foliaire et une moindre efficacité d'utilisation de l'eau [15]. Ces auteurs ont montré également que l'augmentation significative de  $G_s$  à  $50 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  pourrait être expliquée par le contenu foliaire élevé en potassium (K). Ils rapportent que le potassium (K) est impliqué dans le processus d'ouverture et de fermeture du stomate. En effet, l'ouverture et la fermeture des cellules de garde est essentiellement une réponse à l'agitation médiée par des changements dans la concentration de solutés et le soluté majeur impliqué dans les mouvements stomatiques est le K. Dans les feuilles de nombreuses plantes, de très grandes quantités de K se sont accumulées, jusqu'à  $60 \%$  du poids sec. Cela se produit par une combinaison de taux de transpiration élevés et d'un manque de connexion du ploème qui permettrait la retranslocation des ions en excès.

Les changements dans les signaux de fluorescence de la chlorophylle après 75 jours de traitement ont été observés sous les différentes doses de OMW **(Figure 2b)**. Pour la dose  $50 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , le rendement quantique maximale ( $F_v/F_m$ ) a connu une valeur maximale significative, il varie de  $75 \%$  à  $83 \%$ , dont le taux d'augmentation est de l'ordre de  $12,05 \%$ ; chose qui montre que le processus de la photosynthèse chez *Vicia faba L* fonctionne bien du fait que certains auteurs confirment que pour une plante dont la photosynthèse fonctionne bien, la valeur du  $F_v/F_m$  est typiquement comprise entre  $0.80$  et  $0.86$  [32]. Pour la dose  $100 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , la plante a réagi pratiquement de la même manière que Sc. Cependant, la chlorophylle a répondu par fluorescence à l'application agronomique de  $150$  et  $200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  en réduisant l'efficacité photochimique de la PSII ( $F_v/F_m$ ) de  $5 \%$  à  $9 \%$  respectivement par rapport au Sc. Cela suggère que le PSII était relativement altéré le fait que seulement  $9 \%$  de la fonction PSII a été perdu, suggérant que les plants de féverole traités avec la dose de  $200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  OMW ont pu maintenir la fonction PSII. Cette diminution du  $F_v/F_m$  peut être le résultat d'une augmentation de la dissipation d'énergie non radiative de protection associée à une diminution régulée de la photochimie et du taux de photosynthèse, à une dégradation des centres de la PSII ou aux deux [4, 20]. En outre, la figure 2 montre également que l'activité du centre réactionnel PSII ( $F_v/F_0$ ) suit la même évolution que le ( $F_v/F_m$ ). En effet, l'application des OMW à des doses  $50$  et  $100 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  induit une augmentation significative de  $F_v/F_0$  par rapport au Sc dont la dose  $50 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  représente une augmentation maximale de l'ordre de  $25,45 \%$ . Cependant, les doses élevées ( $150$  et  $200 \text{ m}^3/\text{ha}$ ) de OMW entraînent à une diminution significative de  $F_v/F_0$  de l'ordre de  $9 \%$  et  $18,03 \%$  respectivement par rapport au Sc. Ce qui montre que la dose  $200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  exerce un effet de stress plus sévère sur la plante que la dose  $150 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ . Ceci est dû à la perturbation du système photosynthétique (transport d'électrons ou endommagement de la structure thylacoïde côté donneur du PSII) [4,5, 19, 20]. Par conséquent, l'activité du centre réactionnel PSII ( $F_v/F_0$ ) semble plus sensible au stress margine que  $F_v/F_m$  en reflétant des changements dans la photochimie PSII. Une des raisons possibles pour la réduction de la photosynthèse nette était la structure des thylakoïdes endommagée, qui a affecté la photosynthèse (transport d'électrons), comme l'indique la réduction du rapport entre la fluorescence variable et la fluorescence initiale ( $F_v / F_0$ ).

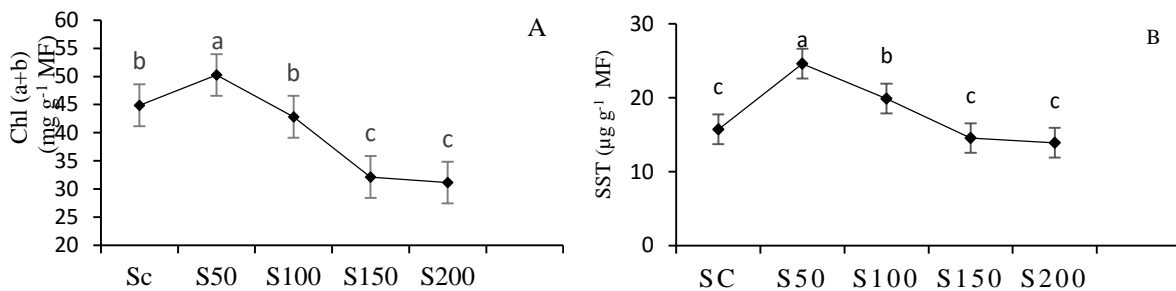


**Figure 2 :** Effet des OMW sur la conductance stomatique ( $G_s$ ) (a) et la fluorescence chlorophyllienne (le rendement quantique maximale ( $F_v/F_m$ ) et l'activité du centre réactionnel PSII ( $F_v/F_0$ )) (b) des plants de *Vicia faba L.* après 75 jours d'incubation

Deux histogrammes portant des lettres différentes, ils sont significativement différents au seuil ( $p \leq 0,05$ ).

Nous avons procédé au dosage des teneurs en chlorophylle totale, paramètre susceptible de nous indiquer un éventuel stress, car considérée comme bio marqueur dans le cadre d'un stress ou d'une toxicité des végétaux [3, 57]. La (**Figure 3A**) illustre l'impact de l'addition des OMW sur la teneur en chlorophylle totale (Chl (a+b)) des feuilles de *Vicia faba L.* Les résultats obtenus ont montré que la teneur en Chl (a+b) atteint sa valeur maximale ( $50,26 \text{ mg g}^{-1}\text{MF}$ ) à  $50 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  contre un Sc ( $44,88 \text{ mg g}^{-1}\text{MF}$ ). Quant à la dose  $100 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , la teneur en Chl (a+b) n'a enregistré aucune différence significative par rapport à celle du Sc. Mais pour les doses  $150$  et  $200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , la teneur en Chl (a+b) a connu une diminution significative par rapport au Sc, dont les taux de diminution sont de l'ordre de  $28,38 \%$  et  $30,59 \%$  respectivement par rapport au Sc. Ces résultats rejoignent les études de certains auteurs [3, 19] qui ont démontré l'amélioration de la teneur en pigments chlorophylliens dans les feuilles d'olivier et les feuilles de *Vicia faba L.* à des doses faibles ( $25$  et  $50 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ ) et une réduction à des doses élevées. Cette diminution remarquable peut être expliquée soit par la teneur élevée en plomb (Pb) dans les OMW utilisées (**Tableau 1**), qui semble exercer un effet stressant qui provoque un dysfonctionnement biochimique des cultures mais sans perturber la croissance des plantes [33], soit par le fait que les plantes n'ont pas reçu des apports appréciables d'azote, parce que cet élément favorise le développement foliaire (y compris la chlorophylle) [3, 7, 11]. Ainsi, d'autres travaux de [33] ont montré également que les valeurs de la chlorophylle A et B diminuent considérablement à partir de la dose  $100 \text{ ppm}$  de plomb où ils ont enregistré des diminutions de l'ordre de  $82 \%$  et  $71 \%$  respectivement pour la chlorophylle A et pour la chlorophylle B. Les travaux de [20, 33] montrent, également, que le plomb peut diminuer le taux de la chlorophylle, mais cette diminution reste faible contrairement à la diminution observée en présence de Zn et Cu. La (**Figure 3B**) présente l'influence de OMW sur l'accumulation des sucres solubles totaux (SST) dans les feuilles de la plante de *Vicia faba L.* Les résultats montrent que les teneurs en SST foliaires ont connu une augmentation significative jusqu'à la dose  $100 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  de OMW par rapport au Sc. Cependant, les teneurs en SST accumulées à des doses élevées ( $150$  et  $200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ ) présentent une légère diminution progressive non significative par rapport au Sc. En effet, pour la dose  $50 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , la teneur en SST atteint sa valeur optimale ( $24,61 \mu\text{g g}^{-1}\text{MF}$ ) contre un témoin ( $15,74 \mu\text{g g}^{-1}\text{MF}$ ). Cette augmentation peut être expliquée par la richesse des OMW en composés organiques (**Tableau 1**), essentiellement des glucides [19] qui enrichissent le sol en ces composés et qui ont un effet positif sur la composition des feuilles de la plante. Nos résultats concordent avec les résultats des [19] qui ont démontré également la même évolution de la teneur en SST en fonction des doses de OMW. De plus, les mécanismes physiologiques de croissance et de développement qui permettent à une espèce végétale de tolérer les effets toxiques peuvent impliquer de nombreux attributs. En effet, nos résultats suggèrent que le facteur majeur de la tolérance de *Vicia faba L.* aux

OMW concentrées (150 et 200 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) est la capacité de produire des solutés protecteurs, tels que la proline et des sucres solubles [20] pour réduire l'effet toxique des métaux lourds des OMW accumulés dans les tissus végétatif [20, 34]. Il est signalé que les SST sont les principaux solutés contribuant au potentiel osmotique des plantes [35]. Les plantes utilisent plusieurs stratégies à base de sucre pour s'adapter aux stress environnementaux [20, 35]. Il a également été suggéré que la proline joue de multiples rôles dans la tolérance au stress des plantes, elle agit comme un médiateur de l'ajustement osmotique, protège les macromolécules pendant la déshydratation et sert d'épurateur de radicaux hydroxyles [20, 35]. Par conséquent, la proline et les sucres solubles sont des substances qualifiées de stress des principaux organes végétatifs (feuilles, tige et racines). Ces substances sont généralement libérés et stockés dans les cellules des organes végétatifs des plantes supérieures en réponse aux différents contraintes et stress environnementales. Elles ont tendance à s'accumuler dans la partie aérienne plutôt que la partie sous terrainne [12, 20].



**Figure 3 :** Evolution de la teneur en Chl (a+b) (A) et en SST (B) au niveau des feuilles des plants de *Vicia faba L* cultivés dans le sol traité avec OMW comparé avec le sol témoin (Sc) après 75 jours d'incubation

Deux histogrammes portant des lettres différentes, ils sont significativement différents au seuil ( $p \leq 0,05$ ).

#### 4. Conclusion

Dans ce travail de recherche, nous nous sommes intéressés à la valorisation agronomique des OMW sur des plants de féverole (*Vicia faba L.*) cultivés en pots. Nos résultats ont montré que la croissance des plants de féverole a été influencée différemment par les OMW en fonction des quantités appliquées. En effet, la croissance optimale a été enregistrée pour les plants cultivés dans le sol amendé avec 50 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>. Le suivi de la réponse des plants sur le plan physiologique a permis de souligner que l'application des OMW à des doses élevées (150 et 200 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) induit des perturbations importantes sur l'activité photosynthétique par la réduction de la quantité des pigments chlorophylliens des feuilles des plantes. Le suivi de l'évolution de la teneur des sucres solubles présent dans les feuilles des plants a révélé une accumulation significative de ces sucres, cette accumulation s'avère proportionnelle avec l'intensité du stress imposé. La production de la biomasse est ralentie par l'intensité du stress, ainsi on a signalé des réductions notables du poids sec de la partie aérienne et racinaire à des doses élevées.

#### Références

- [1] - T. CHATZISTATHIS and T. KOUTSOS, *Agricultural Water Management.*, 190 (2017) 55 - 64
- [2] - H. RAJHI, I. MNIF, M. ABICHOUB and A. RHOUMA, *Int. j. recycl. Org. waste agric.*, 7 (2018) 199 - 210
- [3] - A. MEKKI, F. ALOUI, A. DHOUIB and S. SAYADI, *Journal of Soil Science and Environmental Management*, 3 (2012) 1 - 8

- [4] - S. MAGDICH, W. ABID, M. BOUKHRIS, B. BEN ROUINA and E. AMMAR, *Ecolog Engin.*, 97 (2016) 122 - 129
- [5] - S. MAGDICH, C. BEN AHMED, M. BOUKHRIS, B. BEN ROUINA and E. AMMAR, *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 6 (2015) 56 - 67
- [6] - L. BARBARA, D. S. MARIA GABRIELLA and D.G. LUCIANO, *Soil Sci. Plant Anal.*, 48 (20) (2017) 2420 - 2433
- [7] - L. CHAARI, N. ELLOUMI, S. MMSIEDDI, K. GARGOUGRI, B. BEN ROUINA., *J Agricul Chem and Environ* 4 (2015) 1 - 13
- [8] - O. MEFTAH, Z. GUERGUEB, M. BRAHAM, S. SAYADI, A. MEKKI, *Agricul. Wat. Manag.*, 212 (2018) 119 - 25
- [9] - A. ESMAIL, H. ABED, M. FIRDAOUS, N. CHAHBOUN, Z. MENNANE, E.H. BERNY et M. OUHSSINE, *J. Mater. Environ. Sci.*, 5 (1) (2014) 121 - 126
- [10] - J. M. RUSAN MUNIR, A. ALBALASMEH AMMAR, I. MALKAWI HANAN., *Wat. Air Soil. Pollut.*, 227 (2016) 135 - 43
- [11] - H. AL IMOOR, I. RAED, H. Z. HUSAM, Z. ODAY, Z. MOTASEM, *Chem and Mat Res.*, 9 (2017) 10
- [12] - A. MEKKI, A. ALOUI, Z. GUERGUEB, and M. BRAHAM, *Clean, Soil, Air, Water*, 100 (2018) 1 - 9
- [13] - H. SAHRAOUI, *Afrique Science*, 08 (1) (2012) 97 - 106
- [14] - A. C. BARBERA, C. MAUCIERI, C. IOPPOLO, A. MILANI and V. CAVALLARO, *Wat. Res.*, 52 (2014) 275 - 81
- [15] - G. GULLO, A. DATTOLA, G. LIGUORI, V. VONELLA, R. ZAPPIA and P. INGLESE, *Global Science Books*, (2010) 84 - 90
- [16] - B. BEN ROUINA, S. BEDBABIS, M. BOUKHRIS and G. FERRARA, *Journal of Environmental Management*, 133 (2014) 45 - 50
- [17] - M. ABICHO, K. GARGOURI, A. RHOUMA and H. KHATTELI, *Agric. Sci. Engine. Technol. Res.*, 1 (2014) 16 - 25
- [18] - C. CARUSO, C. MAUCIERI, V. CAVALLARO, M. BORIN and A. C. BARBERA, *Archives of Agronomy and Soil Science*,
- [19] - S. G. JAWAHER, L. BARGOUGUI and M. CHAIEB, *Water. Sci. Technol.*, 80 (2019) 1295 - 1303
- [20] - F. TAJINI, A. OUERGI and K. HOSNI, *J. New Sci. Agric. Biotech.*, 66 (6) (2019) 4193 - 4203
- [21] - E. DE MARCO, M. SAVARESE, A. PADUANO and R. SACCHI, *Food Chem*, 104 (2007) 858 - 867
- [22] - J. PAUWELS, E. VAN RANST, M. VERLOO et A. MVONDO, *Publications agricoles-28, AGCD, Bruxelles, Belgique*, (1992) 265
- [23] - L. DI GIOVACCHINO, *Olivae*, 104 (2005) 55 - 63
- [24] - J. MUNIR, M. RUSAN, R. AMMAR, A. ALBALASMEH and H. I. MALKAWI, *Water Air Soil Pollut*, 227 (2016) 135
- [25] - M. ABICHO, K. GARGOURI, A. RHOUMA and H. KHATTELI, *Agric. Sci. Engine. Technol. Res.*, 1 (2014) 16 - 25
- [26] - A. S. FOLTETE, " *Effets génotoxiques et système de détoxification chez Vicia faba Fabaceae dans le cadre de l'évaluation des sols pollués* ", Thèse unique, Université Paul Verlaine Metz, France (2015) 245 p.
- [27] - A. MEKKI, A. DHOUIB, F. FEKI, S. SAYADI, *Internat. J. Recycl. Org. Wast. in Agricul.*, 2 (2013) 15
- [28] - M. BELAQZIZ, A. EL-ABBASSI, E. LAKHAL, E. AGRAFIOTI and C. GALANAKIS, *J. Environ. Manag.*, 171 (2016) 158 - 165
- [29] - L. BARBARA, D. S. MARIA GABRIELLA and D.G. LUCIANO, *Soil Sci. Plant Anal.*, 48 (20) (2017) 2420 - 2433
- [30] - G. SINGH, D. R. BISWAS and T. S. MARWAH, *J. Plant Nutr.*, 33 (2010) 1236 - 1251
- [31] - L. BARGOUGUI, Z. GUERGUEB, M. CHAIEB, M. BRAHAM and A. MEKKI, *Agricul. Wat. Manag.*, 212 (2018) 60 - 7
- [32] - B. MECHRIA, H. CHEHEBB, O. BOUSSADIAB, B. F. ATTIA, F. BEN MARIEMB, M. BRAHAMB and M. HAMMAMIA, *Environ. Exp. Bot.*, 71 (2011) 184 - 191
- [33] - C. MOURI, H. BENHASSAINI, F. Z. BENDIMERED and M. BELKHODJA, *ACTA BOTANICA GALLICA : Botany Letters*, 159 (1) (2012) 127 - 135
- [34] - A. MEKKI, *Journal of Water Science and Engineering*, 1(5) (2019) 1 - 10
- [35] - G. ZELALEM, H. AZAMAL, F. MASRESHA and Y. GIETAHUN, *Ethiopian J. Agric. Sci.*, 14 (2015) 188 - 202