



UNIVERSITÉ SULTAN MOULAY SLIMANE

Faculté des Sciences et Techniques

Béni-Mellal

Centre d'Études Doctorales : Sciences et Techniques



Formation Doctorale : **Ressources Naturelles, Environnement et Santé**

THÈSE

Présentée par

Elmehdi OUATIKI

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR

Discipline : Biologie

Spécialité : Biologie Appliquée à l'Environnement

Master spécialisé en Génie Agro-Alimentaire

**Phytoremédiation d'un sol pollué par les métaux lourds
utilisant la relation symbiotique entre *Pinus halepensis* et le
champignon *Scleroderma* assistée par un sable neutre: cas de
la mine abandonnée de Kettara à Marrakech**

Président / Rapporteur	Abdelmajid HADDIOUI	Professeur, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane, Beni Mellal
Rapporteur	Allal DOUIRA	Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra
Rapporteur	Rachid BOUAMRI	Professeur Habilité, École Nationale d'Agriculture, Meknès
Invité	Mohamed Najib ALFEDDY	Chercheur, Centre Régional de la Recherche Agronomique, Marrakech,
Invitée	Laila MIDHAT	Professeur Assistant, Université Privée, Marrakech
Co-encadrant	Lahcen OUAHMANE	Professeur, Faculté Polydisciplinaire, Université Cadi Ayyad, Marrakech
Co-encadrante	Soumia AMIR	Professeur, Faculté des Sciences et Techniques - Gueliz, Université Cadi Ayyad, Marrakech
Directeur de Thèse.	Abdessamad TOUNSI	Professeur, Faculté Polydisciplinaire, Université Sultan Moulay Slimane, Béni Mellal,

FICHE PRÉSENTATIVE DE LA THÈSE

Nom et Prénom de l'auteur : OUATIKI Elmehdi

Intitulé du travail :

Phytoremédiation d'un sol pollué par les métaux lourds utilisant la relation symbiotique entre *Pinus halepensis* et le champignon *Sclerotium* assistée par un sable neutre: cas de la mine abandonnée de Kettara à Marrakech

Nom et Prénom du Directeur des travaux de recherche :

Nom, prénom et grade : TOUNSI Abdessamad, PES

Co-encadrants :

- Nom, prénom et grade : AMIR Soumia, PES
- Nom, prénom et grade : OUAHMANE Lahcen, PES

Laboratoires où les travaux ont été réalisés :

- Laboratoire Polyvalent de Recherche et Développement, Faculté Polydisciplinaire Béni Mellal, Maroc.
- Centre National de Recherche et d'Études sur l'Eau et l'Énergie (CNEREE), BP / 511, Université Cadi Ayyad, Marrakech 40000, Maroc.
- Laboratoire de Biotechnologies Microbiennes Agro-sciences et Environnement (BioMAgE), Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.

Période de réalisation du travail de thèse : 2016 – 2021.

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

PUBLICATIONS

✚ Articles publiés:

- **E. Ouatiki**, A. Tounsi, S. Amir, L. Midhat, M. Radi & L. Ouahmane, 2021. Inoculation of *Pinus halepensis* with the ectomycorrhizal fungi *Scleroderma* helps in phytoremediation to soil polymetallic pollution, *Polish Journal of Environmental Studies*, 30(6), 1–11. <https://doi.org/10.15244/pjoes/131979>.
- **E. Ouatiki**, L. Midhat, A. Tounsi, S. Amir, A. Faissal, M. Radi & L. Ouahmane, 2022. The association between *Pinus halepensis* and the Ectomycorrhizal fungus *Scleroderma* enhanced the phytoremediation of a polymetal-contaminated soil, *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s13762-022-03993-4>.
- M. Radi, A. Meddich, **E. Ouatiki**, L. Ouahmane, M. Hafidi & A. Ben Salem, 2021. Effects of Urbanization on the Degradation of the Palm Grove Around the City of Marrakech, *Handbook of Research on Environmental Education Strategies for Addressing Climate Change and Sustainability*, 323-337. <https://doi.org/10.4018/978-1-7998-7512-3.ch016>.

✚ Chapitres de livres :

- L. Midhat, **E. Ouatiki**, L. Mandi, N. Ouazzani, A. Tounsi, S. Amir, M. Radi & L. Ouahmane, 2021. Symbiotic Effect of Mycorrhizal Fungi and Native Plant on Phytoremediation of Contaminated Soils. *Microbial-Based Land Restoration* (Accepté).
- A Tounsi, L Midhat, A El Ghazali, **E Ouatiki**, M El Idrissi, 2022. Electrochemical Sensors for Food Quality and Safety, *Springer nature* (Accepté).

COMMUNICATIONS DANS LES CONGRES NATIONAUX ET INTERNATIONAUX

✚ Communications posters

- **E. Ouatiki**, A. Tounsi, S. Amir, L. Ouahmane ; Use of Mycorrhizal Fungi in Phytoremediation Strategies in an Abandoned Mine Site ; Quatrième Edition du Congrès International “MICROBIOD 4” sous le thème “Biotechnologies Microbienne au Service du Développement, 24 - 26 April 2019, Agadir – Maroc ;

- **E. Ouatiki**, A. Tounsi, S. Amir, L. Ouahmane ; La e et la Dépollution d'un Site Minier Abandonné ; Congrès International Matériaux Appliqués à l'Environnement, 5-7 Décembre 2018, Agadir –Maroc ;
- **E. Ouatiki**, A. Tounsi, S. Amir, L. Ouahmane ; Prévention de l'Infiltration des Métaux Lourds dans les Eaux Souterraines par l'Utilisation des Mycorhizes, la Journée des Doctorants JDC2019 organisée par le CNEREE, 11 Juillet 2019 à la FST Marrakech - Maroc.

✚ Communications orales

- **E. Ouatiki**, A. Tounsi, S. Amir, L. Ouahmane ; Valorisation de l'Espèce *Pinus halepensis* Miller et des Champignons Mycorhiziens dans la Dépollution d'un Site Polymétallique, 7^{ème} Edition de l'École Internationale de Recherche Organisée sous le thème : Biodiversité, Biotechnologie & Développement Durable, 25 - 27 Avril 2019 à la Faculté des Science, Agadir-Maroc ;
- **E. Ouatiki**, A. Tounsi, S. Amir, L. Ouahmane ; La Dépollution d'un Site Minier Abandonné par la Technique de la Phytoremediation à l'aide des Ectomycorhizes, Congrès International sur les Territoires Innovants, sous le thème de la Créativité en Ville à la Ville Créative, 26 Février au 1^{er} Mars 2019, Essaouira-Maroc.
- **E. Ouatiki**, L. Midhat, A. Tounsi, S. Amir, M. Radi & L. Ouahmane ; Assessment of the Phytoremediation Potential of *Pinus halepensis* Miller Species for Zinc Contaminated Soils. 1st International Congress on Sustainable Agriculture: tools and innovation AgriNov2021, Octobre 27-30/2021, Beni Mellal (Morocco).
- M. Radi, **E. Ouatiki**, A. Meddich, S. Koalal, L. Ouahmane, L. Midhat & M. Hafidi ; Effects of urbanization on the degradation the Palm grove around the city of Marrakech. 1st International Congress on Sustainable Agriculture: tools and innovation AgriNov2021, Octobre 27-30/2021, Beni Mellal (Morocco).
- L. Midhat, L. Mandi, N. Ouazzani, A. Ouhammou, **E. Ouatiki** & A Tounsi; Sustainable Rehabilitation of Abandoned Mining Site using Native Plants: Bir Nehass Mine. 1st International Congress on Sustainable Agriculture: tools and innovation AgriNov2021, Octobre 27-30/2021, Beni Mellal (Morocco).

*À mes chers parents,
À mes frères et sœurs
À ma femme
À mon enfant ADAM*

Elmehdi OUARTIKI

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je voudrais remercier ici toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Je tiens à leur exprimer ma profonde reconnaissance et qu'ils trouvent ici le témoignage de ma plus profonde gratitude.

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur Said MELLIANI (Doyen de la Faculté des Sciences et Technique Béni Mellal) pour l'importance qu'il porte aux activités de recherche au sein de notre établissement.

Je tiens aussi à témoigner toute ma reconnaissance à mon Directeur de thèse le Professeur Abdessamad TOUNSI pour le travail que nous avons réalisé en commun et pour la confiance et le suivi qu'il m'a accordés. Ce fut un grand plaisir de travailler et d'apprendre, jour après jour, à son côté. Il m'a ouvert les portes de son expérience, sans conditions. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude. Je le remercie également pour le temps qu'il a consacré à la correction minutieuse de ce manuscrit.

Je remercie la Professeure Soumia AMIR, Directrice du Laboratoire Polyvalent en Recherche et Développement à la Faculté Polydisciplinaire Béni Mellal, Maroc, de m'avoir accueillie dans son laboratoire, de sa disponibilité, sa rigueur scientifique et ses précieux conseils qui m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions ses encouragements et son soutien moral et aussi pour l'estime qu'elle a toujours manifesté à mon égard.

Je tiens aussi à témoigner toute ma reconnaissance à mon co-encadrant le Professeur Lahcen OUAHMANE. Il m'a initié à la recherche et à la vigueur scientifique. C'est lui l'initiateur de ce projet de recherche sur les mycorhizes. Je l'ai toujours écouté avec intérêt depuis notre première rencontre jusqu'à présent. Il a suivi avec enthousiasme les travaux de cette thèse dans toutes ses étapes, depuis le laboratoire jusqu'à la publication des résultats de nos travaux de recherche passant par le terrain.

Ces remerciements seraient incomplets si je ne les adressais pas à l'ensemble des enseignants du Centre d'Études Doctorales qui m'ont apporté un soutien incommensurable dans ma formation académique et qui m'ont également fait bénéficier de leurs expériences.

J'exprime ma vive reconnaissance au Professeur Abdelmajid HADDIOUI pour avoir accepté de rapporter et de présider le jury. Mes sincères remerciements vont également aux membres de jury de thèse : Monsieur Allal DOUIRA, Professeur à la Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra, Monsieur Rachid BOUAMRI, Professeur Habilité à l'École

Nationale d'Agriculture, Meknès, Monsieur Mohamed Najib ALFEDDY, Chercheur au Centre Régional de la Recherche Agronomique, Marrakech, Madame Laila MIDHAT, Enseignante-chercheuse à l'Université Privée, Marrakech.

Je tiens à remercier également toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide pour mener à bien ce travail. Je pense notamment à Madame Laila MIDHAT Professeur à l'Université Privé de Marrakech à Mr Mohamed RADI pour ses critiques constructives, et son soutien moral pendant ces années de thèse. Je leur suis très reconnaissant.

Je tiens également à adresser mes plus vifs remerciements à tous mes amis (es) et collègues avec qui j'ai eu le plaisir de travailler : Elmostapha OUTAMAMAT, Mohamed OUBANE, Ayoub HAOUAS, ... Je vous remercie infiniment pour vos aides, vos soutiens, vos conseils, vos écoutes attentives et pour vos continuelles ambiances chaleureuses et conviviales.

Un grand merci à tous

Elmehdi OUARTIKI

RÉSUMÉ

Le présent travail de recherche s'inscrit dans le cadre général de la lutte contre la pollution polymétallique dans différentes mines abandonnées du Maroc. Cette thèse vise la mise en place d'une technique de phytoremédiation qui permettra non seulement d'utiliser la capacité des plantes d'adsorber et de stocker les éléments nutritifs, les éléments traces métalliques et de l'eau mais aussi d'assurer leur interaction avec le milieu extérieur notamment les relations mutuelles avec certains champignons mycorhiziens proliférant au niveau de son rhizosphère. La plante phytoremediatrice constituant le fondement de la présente étude est le Pin d'Alep, appartenant aux conifères, en particulier l'espèce *Pinus halepensis*. Nous avons évalué, en premier lieu, la capacité des plantules de *Pinus halepensis* à se développer dans un substrat de culture composé d'un mélange de sol minier acide (pH<3) et de sable neutre. Dans un deuxième temps, la capacité des plantules de *Pinus halepensis* à accumuler et transloquer les éléments traces métalliques (Pb, Cu, Cd et Zn) présents dans le sol du site minier de Kettara a été étudiée. En troisième temps, nous avons démontré l'aptitude de l'espèce *Pinus halepensis* à intégrer dans le programme de phytoremédiation essentiellement la phytostabilisation. En dernier lieu, nous avons évalué les effets d'une phytoremédiation assistée par l'inoculation de la plante étudiée et par l'ajout de sable sur l'effet de réhabilitation du site minier de Kettara (région de Marrakech) contaminé par les éléments traces métalliques.

À cet égard, nous avons mené, pendant six mois sous serre, une expérience en pots de 5 litres remplis d'un mélange de sol de la mine et un sable neutre selon les proportions suivantes : 0% (sable), 10%, 25%, 50%, 75% et 100% (sol minier), en présence de graines germées de l'espèce *Pinus halepensis*. Ces dernières ont ensuite été inoculées avec des spores en suspension de champignons ectomycorhiziens appartenant au genre *Scleroderma*.

Les analyses effectuées ont conduit à un certain nombre de résultats intéressants tant pour les paramètres de croissance que pour les caractéristiques physico-chimiques des plants et les constituants de leur milieu de vie. Ces résultats montrent que les plantules de *Pinus halepensis* sont capables de résister à un pourcentage élevé de pollution, pouvant atteindre 75%. En outre, nous avons relevé une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du pH et de la conductivité électrique de 11% et 29% respectivement du substrat de culture en comparaison avec celui contenant des plantules non-mycorhizées.

On a également relevé une diminution des paramètres de croissance tels que la longueur moyenne et la biomasse des parties aériennes et racinaires des plantules inoculées et non inoculées avec l'augmentation de la proportion de sol pollué. Néanmoins, les valeurs de ces paramètres de croissance sont plus élevées chez les plantules mycorhizées.

En revanche, les concentrations accumulés en éléments traces métalliques Pb, Cd et Zn dans les racines des plantules mycorhizées ont augmenté de manière significative ($p \leq 0,05$) de (39 %, 22 % et 28 %) respectivement par rapport à celles non mycorhizées.

Au regard des valeurs obtenues des facteurs de bioaccumulation (FB) et des facteurs de translocation (FT) des plantules mycorhizées, on observe que seul l'élément Zn a $FB > 1$ et $FT < 1$ dans tous les taux de pollution. Ainsi, les plantules de *Pinus halepensis* sont capables d'accumuler des concentrations importantes de ce métal dans leurs racines, indiquant ainsi que cette espèce pourrait être utilisée dans un programme de phytostabilisation ou de phytoextraction principalement pour l'élément du Zn. En plus, l'inoculation par des spores en suspension de champignon de genre *Scleroderma* combinée à l'amendement avec du sable pourrait être proposée comme une solution ultime pour la réhabilitation, par la technique de phytoremédiation, des sites pollués par des éléments traces métalliques.

Mots clés :

Pinus halepensis ; Phytoremédiation ; *Scleroderma*; Ectomycorhize ; phytostabilisation.

ABSTRACT

The present research work is part of the general framework of the fight against polymetallic pollution in different abandoned mines in Morocco. This thesis aims at the implementation of a phytoremediation technique which will not only allow to use the capacity of plants to adsorb and store nutrients, metallic trace elements and water but also to ensure their interaction with the external environment, in particular the mutual relations with certain mycorrhizal fungi proliferating at the level of its rhizosphere. The phytoremediator plant constituting the basis of the present study is the Aleppo pine, belonging to the conifers, in particular the species *Pinus halepensis*. We evaluated, first, the ability of *Pinus halepensis* seedlings to grow in a culture substrate composed of a mixture of acidic mining soil (pH<3) and neutral sand. Secondly, the ability of *Pinus halepensis* seedlings to accumulate and translocate trace metal elements (Pb, Cu, Cd and Zn) present in the soil of the Kettara mine site was studied. Thirdly, we demonstrated the ability of the species *Pinus halepensis* to integrate in the phytoremediation program essentially phytostabilization. Finally, we evaluated the effects of a phytoremediation assisted by the inoculation of the studied plant and by the addition of sand on the rehabilitation effect of the mining site of Kettara (region of Marrakech) contaminated by metallic trace elements.

In this regard, we conducted an experiment in 5-liter pots filled with a mixture of mine soil and neutral sand in the following proportions: 0% (sand), 10%, 25%, 50%, 75% and 100% (mine soil), and germinated seeds of the species *Pinus halepensis*. These were then inoculated with suspended spores of ectomycorrhizal fungi belonging to the genus *Scleroderma*.

The analyses carried out led to a number of interesting results both for the growth parameters and for the physico-chemical characteristics of the seedlings and the constituents of their living environment. These results show that *Pinus halepensis* seedlings are able to resist a high percentage of pollution, up to 75%. In addition, we found a significant increase ($p \leq 0,05$) in pH and electrical conductivity of 11% and 29%, respectively, of the culture substrate compared to that containing non-mycorrhized seedlings.

Growth parameters such as average length and biomass of aerial and root parts of inoculated and non-inoculated seedlings were also found to decrease with increasing proportion of polluted soil. Nevertheless, the values of these growth parameters are higher in mycorrhized seedlings.

On the other hand, the accumulated concentrations of trace metal elements Pb, Cd and Zn in the roots of mycorrhized seedlings increased significantly ($p \leq 0,05$) by (39%, 22% and 28%) respectively compared to non-mycorrhized ones.

Looking at the obtained values of bioaccumulation factors (FB) and translocation factors (FT) of mycorrhized seedlings, it is observed that only the element Zn has $FB > 1$ and $FT < 1$ in all pollution rates. Thus, *Pinus halepensis* seedlings are able to accumulate significant concentrations of this metal in their roots, indicating that this species could be used in a phytostabilization or phytoextraction program primarily for the element Zn. In addition, the inoculation with suspended spores of *Scleroderma* fungus combined with the amendment with sand could be proposed as an ultimate solution for the rehabilitation, by the phytoremediation technique, of sites polluted by trace metals.

Key words:

Pinus halepensis; Phytoremediation; *Scleroderma*; Ectomycorrhiza; phytostabilization.

ملخص

يندرج هذا العمل البحثي في إطار مكافحة التلوث الناجم عن مختلف الفلزات في المناجم المهجورة في المغرب. تهدف هذه الأطروحة إلى وضع تقنية المعالجة النباتية وذلك باستخدام خصائص النباتات على امتصاص وتخزين العناصر الغذائية و العناصر النزرة المعدنية وكذلك المياه، و أيضاً استخدام تفاعلها مع البيئة الخارجية على وجه الخصوص العلاقات المتبادلة مع بعض الفطريات التي تتكاثر على مستوى جذورها. في إطار هذه المعالجة النباتية تم استعمال بشكل أساسي نبتة من السنوبريات ، ولا سيما نوع السنوبر الحلبي. خلال هذا البحث قمنا بالعديد من الدراسات أولاً تقييم قدرة شتلات السنوبر الحلبي على التطور في وسط نمو يتكون من تربة التعدين الحمضية ($pH < 3$) والرمل المحايد. ثانياً دراسة قدرة شتلات السنوبر الحلبي على تجميع ونقل العناصر النزرة المعدنية (الرصاص والنحاس والزنك والكاديوم) الموجودة في تربة موقع تعدين قطارة. ثالثاً إظهار أهلية أنواع السنوبر الحلبي كنبات ممكن استعماله في المعالجة النباتية وبشكل أساسي في التثبيت النباتي. أخيراً تقييم تأثيرات المعالجة النباتية بمساعدة تلقح النبات المدروس وإضافة الرمل على تأثير إعادة تأهيل موقع التقيب القطارة (مراكش) الملوثة بالعناصر النزرة المعدنية.

في هذا الصدد، أجرينا، لمدة ستة أشهر في صوبة زراعية، تجربة في أواني سعة 5 لترات مملوءة بخليط من تربة المنجم والرمل المحايد بالنسب التالية: 0% (رمل) ، 10% ، 25% ، 50% و 75% و 100% (تربة المنجم) بوجود بذور نبتة السنوبر الحلبي التي تم تلقحها بأبواغ فطريات جذرية خارجية التي تنتمي إلى جنس تصلب الجلد.

اسفرت التحليلات التي تم إجراؤها إلى عدة نتائج مهمة تتعلق بمعايير النمو والخصائص الفيزيائية والكيميائية للنباتات ومكونات بيئتها المعيشية. أظهرت هذه النتائج أن شتلات السنوبر الحلبي قادرة على تحمل نسبة عالية من التلوث تصل إلى 75%. بالإضافة إلى ذلك، لاحظنا زيادة لها دلالة احصائية ($p < 0,05$) في درجة الحموضة والتوصيل الكهربائي بنسبة 11% و 29% على التوالي لوسط النمو مقارنة بتلك التي تحتوي على شتلات غير ملقحة.

كما لوحظ انخفاض معايير النمو مثلاً متوسط الطول والكتلة الحيوية للأجزاء الهوائية والجذرية للشتلات الملقحة وغير الملقحة مع زيادة نسبة التربة الملوثة. ومع ذلك، فإن قيم معايير النمو هذه تبقى أعلى في الشتلات الملقحة.

بالمقابل فإن التراكيز المتراكمة للعناصر النزرة المعدنية Pb و Cd و Zn في جذور الشتلات الملقحة زادت بدلالة احصائية ($p < 0,05$) بنسبة (39% ، 22% ، 28%) على التوالي مقارنة بتلك الغير الملقحة.

في ضوء القيم التي تم الحصول عليها لعوامل التراكم الأحيائي (FB) وعوامل الانتقال (FT) لشتلات الملقحة، لوحظ أن عنصر Zn فقط يحتوي على $FB > 1$ و $FT < 1$ في جميع معدلات التلوث. وبالتالي ، فإن شتلات السنوبر الحلبي قادرة على تجميع تركيزات كبيرة من هذا المعدن في جذورها ، مما يشير إلى أنه يمكن استخدام هذا النوع في برنامج تثبيت نباتي أو استخراج نباتي بشكل أساسي لعنصر الزنك. بالإضافة إلى ذلك ، يمكن اقتراح التلقيح بأبواغ فطريات جذرية خارجية من جنس تصلب الجلد مع التعديل بالرمل كحل لإعادة تأهيل المواقع الملوثة بالعناصر النزرة المعدنية عن طريق تقنية المعالجة النباتية.

الكلمات المفتاح :

السنوبر الحلبي، المعالجة النباتية، تصلب الجليدي، فطريات جذرية خارجية ، التثبيت النباتي

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	5
I Pollution du sol.....	6
I.1 Différentes perceptions du sol.....	6
I.2 Constituants du sol	6
I.2.1 Phase solide du sol.....	7
I.2.2 Phase liquide du sol	8
I.2.3 Phase gazeuse du sol	9
I.3 Polluants métalliques dans le sol.....	9
I.3.1 Pollution du sol par les ETMs	9
I.3.2 Valeurs limites et admissibles des ETMs dans le sol	10
I.3.3 Comportement des polluants dans les sols	10
I.3.4 Origines des polluants	11
I.4 ETMs et plantes.....	12
I.4.1 Voies d'absorption.....	12
I.4.2 Impact des ETMs sur les plantes	13
I.5 Techniques de remédiation des sols contaminés en ETMs	14
I.5.1 Techniques physiques.....	14
I.5.2 Techniques chimiques	15
I.5.3 Techniques biologiques	15
I.6 Aspects législatifs pour la protection contre la pollution	15
II Phytoremédiation.....	16
II.1 Historique	16
II.2 Définition de la phytoremédiation.....	18
II.3 Différentes stratégies de la phytoremédiation.....	18
II.3.1 Phytodégradation	18

II.3.2	Phytovolatilisation	20
II.3.3	Phytoextraction	21
II.3.4	Phytostabilisation	21
II.3.5	Phytofiltration	22
II.4	Avantages et inconvénients de la phytoremédiation	22
II.5	Stratégies contribuant à améliorer la phytoremédiation assistée.....	25
III	Pin d'Alep.....	25
III.1	Généralités.....	25
III.2	Description de l'espèce <i>Pinus halepensis</i> Mill	26
III.2.1	Classification	26
III.2.2	Vision paléontologique sur le Pin fossile	27
III.2.3	Aire naturelle du pin d'Alep.....	28
III.2.4	Ecologie du pin d'Alep.....	30
III.2.5	Biologie du pin d'Alep	31
III.2.6	Productivité du pin d'Alep	34
III.2.7	Végétation associée au pin d'Alep.....	34
III.2.8	Espèces de champignons ectomycorhiziens associées au Pin d'Alep au Maroc	35
III.2.9	Utilité du pin d'Alep dans le domaine de la recherche.....	35
IV	Mycorhization.....	36
IV.1	Historique	36
IV.2	Définition du mycorhize.....	38
IV.2.1	Associations ectomycorhiziennes et endomycorhiziennes.....	39
IV.3	Rôles des symbioses mycorhiziennes.....	42
IV.3.1	Amélioration de la nutrition phosphatée	42
IV.3.2	Amélioration de la nutrition azotée	43
IV.3.3	Amélioration de la nutrition en oligo-éléments.....	43
IV.3.4	Amélioration de la nutrition hydrique	43
IV.3.5	Tolérance aux stress environnementaux.....	45

IV.3.6	Champignons mycorhiziens comme agents de bioprotection	45
IV.4	Le rôle des ectomycorhizes en matière de phytoremediation et leur impact sur les métaux lourds	46
V	Site minier abandonnée kettara.....	47
V.1	Historique de la mine Kettara.....	47
VI	Forêt de Guedmioua	48
VI.1	Localisation	48
VI.2	Présentation de la forêt.....	48
VI.2.1	Données géologiques.....	49
CHAPITRE II: MATÉRIELS ET MÉTHODES		50
I	Description du site d'étude	51
I.1	Mine abandonnée de Kettara.....	51
I.1.1	Localization	51
I.1.2	Données géologiques.....	52
I.1.3	Données climatiques.....	52
II	Échantillonnage	52
II.1	Sols.....	52
II.2	Récolte des fructifications de champignon	54
III	Germination des graines	56
IV	Composition du substrat de culture	56
V	Plantation des graines	57
VI	Récolte des plantules	58
VII	Mesure de la taille des plantules et de la biomasse des plantules.....	58
VIII	Taux de colonisation ectomycorhizienne	59
IX	Caractérisation physico-chimique des échantillons.....	60
IX.1	Potentiel hydrogène (pH)	62
IX.2	Conductivité électrique.....	62
IX.3	Granulométrie.....	62

IX.4	Calcaire total (Calcimètre de Bernard).....	63
IX.5	Carbone Organique Total	64
IX.6	Azote kjeldahl Total NTK.....	65
IX.7	Phosphore assimilable (P Olsen).....	66
IX.8	Détermination des éléments majeurs et les ETMs dans le sol et dans les tissus végétaux.....	67
X	Facteur de Translocation (FT) et facteur de bioaccumulation (FB)	67
XI	Analyses statistiques.....	68
	CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	69
	PARTIE 1 : L'INOCULATION DU PIN D'ALEP (<i>PINUS HALEPENSIS</i> MILLER) AVEC LE CHAMPIGNON ECTOMYCORHIZIEN <i>SCLERODERMA</i> COMME AIDE À LA PHYTOREMÉDIATION DE LA POLLUTION POLYMÉTALLIQUE DU SOL.....	70
I	Introduction	70
II	Caractérisation du substrat.....	71
II.1	Sol minier	71
II.2	Sable	72
III	Effet de la mycorhization sur la croissance des plantules de <i>Pinus halepensis</i>	73
IV	Divers morphotypes des apex ectomycorhiziens.....	79
V	Taux de mycorhization	81
VI	Corrélation des paramètres de croissance avec le taux de mycorhization.....	82
VII	Conclusion	86
	PARTIE 2 : ÉVALUATION DE L'ACCUMULATION DES ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES PAR <i>PINUS HALEPENSIS</i> INOCULÉ AVEC LE CHAMPIGNON ECTOMYCORHIZIEN <i>SCLERODERMA</i> ET DE LEUR POTENTIEL DE PHYTOREMÉDIATION	87
I	Introduction	87
II	Effet de la symbiose ectomycorhizienne sur le pH, la CE, la COT et la teneur en nutriments de substrat de culture	88
III	Effet de la mycorhization sur la teneur en ETMs.....	94

IV	Effet de la mycorhization sur l'accumulation des métaux dans les plantules de <i>Pinus halepensis</i>	96
V	Effet de la mycorhisation sur l'efficacité de la phytoremédiation	101
VI	Facteurs de bioaccumulation et de translocation du Zn, Pb, Cu.....	101
VII	Conclusion.....	104
	CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	105
	Conclusion générale.....	106
	Perspectives	108
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	109

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Concentrations moyennes des ETMs (mg.Kg ⁻¹ Matière Sèche) dans la croute terrestre et valeurs limites dans les sols pour différentes utilisations.....	10
Tableau 2. Principaux symptômes d'un excès de métaux chez les angiospermes	13
Tableau 3. Quelques résultats des techniques de phytoremédiation	23
Tableau 4. Avantages et inconvénients de la phytoremédiation	24
Tableau 5. Classification de l'espèce <i>Pinus halepensis</i>	27
Tableau 6. Plantes associées du pin d'Alep par ambiance bioclimatique.....	34
Tableau 7. Différents types d'espèces végétales plantées dans la forêt du Guedmioua	49
Tableau 8. Pourcentages du sable et du SMK servant à la préparation des substrats de culture.	57
Tableau 9. Caractéristiques physico-chimiques élémentaires des sols composites des résidus miniers de Kettara.....	71
Tableau 10. Caractéristiques physico-chimiques du sable.....	73
Tableau 11. Pourcentage de croissance moyen de biomasse sèche et de longueur de partie aérienne et partie racinaire de plantules après six mois de culture.....	75
Tableau 12. Variations du pH, CE et TOC rhizosphérique dans les traitements mycorhizés et non mycorhizés avec les différents taux de pollution des résidus de Kettara.	91

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Schéma des constituants d'un échantillon de milieux poreux insaturés sur une base volumétrique et massique	7
Figure 2. Origines des ETMs dans le sol.....	11
Figure 3. Transport radial dans la racine (a) et transport vertical dans la plante entière (b) ...	12
Figure 4. Voie d'absorption foliaire des ETMs	14
Figure 5. Photos montrant les effets de la phytoremédiation dans le site minier de terres rares en 2009 (a), 2010 (b), 2011 (c) et 2012 (d), respectivement	17
Figure 6. Schéma représentatif de différents types de la phytoremédiation.....	20
Figure 7. Schéma représentant la phytoextraction induite (a) et la phytoextraction continue (b)	22
Figure 8. Phylogénie simplifiée des conifères situant les différents niveaux de classification utilisés pour classer les espèces de pins.....	27
Figure 9. Aiguilles fossiles de <i>Pinus plioarmandii</i> sp. nov. du Pliocène de Yunnan, Chine ..	28
Figure 10. Cône de conifère de l'Oligocène	28
Figure 11. Carte de la répartition des populations du pin d'Alep au Maroc	29
Figure 12. Aires de répartition de <i>Pinus halepensis</i> et <i>Pinus brutia</i>	30
Figure 13. Aire de projection de <i>Pinus halepensis</i> (...) et de <i>Pinus brutia</i> (-.-) (sur le climagramme d'Emberger.....	31
Figure 14. Image représentant la taille estimative d'un pin Alep de la forêt Guedmioua par rapport à une taille humaine moyenne.....	32
Figure 15. Photo du tronc du pin Alep de la forêt Guedmioua	32
Figure 16. Cycle d'évolution et de fructification du pin d'Alep	33
Figure 17. Photos des racines géantes du pin d'Alep dans la forêt Guedmioua dans la région d'Amizmiz.....	33
Figure 18. Description du genre pinus.....	35
Figure 19. Micrographies électroniques à balayage des hyphes et les apexes des ectomycorhiziens dans l'ambre de l'Éocène de l'Inde.(—) 20 µm (a,b); 5 µm (c-d).....	36
Figure 20. Fossiles représentant des structures qui ressemblent aux arbuscules des champignons endomycorhize	37
Figure 21. Photomicrographies au microscope optique des hyphes et des apexes ectomycorhiziens dans l'ambre de l'Éocène de l'Inde. (--) 500 µm (a); 100 µm (b,c et d).....	37
Figure 22. Différents types d'associations mycorhiziennes	38
Figure 23. Racine de Pin colonisée par le champignon ectomycorhizien	39

Figure 24. Photographie d'une racine ectomycorhizée du pin d'Alep sous la loupe(a). Représentation schématique d'une racine mycorhizée(b) et non-mycorhizée(c) de <i>Fagus sylvatica</i>	40
Figure 25. Types de MA: (a) le type Paris, (b) le type Arum	41
Figure 26. Voies possibles pour le transport de l'eau entre le sol et le xylème racinaire dans une racine ectomycorhizienne d'une gymnosperme	44
Figure 27. Situation géographique des forêts aménagées du bassin versant de Tensift (Réalisé à partir des PV d'aménagements des forêts)	48
Figure 28. Principales caractéristiques géologiques du nord-ouest du Haut Atlas et de la plaine adjacente du Haouz.....	49
Figure 29. Photo aérienne du site minier Kettara	51
Figure 30. Photo panoramique de la partie sud du site minier Kettara «chapeau de fer »	51
Figure 31. Localisation des zones de prélèvements des sols et résidus miniers du site de Kettara	53
Figure 32. Exemples de types de résidus collectés sur le site de la MK	53
Figure 33. Inoculation des plantules	54
Figure 34. Image satellitaire représentant la forêt de Guedmioua.....	55
Figure 35. Photos des fructifications prélevées dans la forêt de Guedmioua.....	55
Figure 36. Photo présentant les premiers stades de germination des graines de pin d'Alep ...	56
Figure 37. Série de pots utilisés dans l'expérience	58
Figure 38. Photos des plantules du pin d'Alep après six mois de culture avant (a) et après (b) récolte.	59
Figure 39. Photo de plantule de pin d'Alep en mesurant de la taille	59
Figure 40. Photo des morceaux des racines du pin d'Alep colonisé par genre <i>Scleroderma</i> mycorhizées vue à l'œil nue (pourcentage de pollution 10%) (a): Photos représentant les apex mycorhizés et non mycorhizés sous stéréomicroscopie (b)	60
Figure 41. Analyseur FXR portable (Olympus Delta, UK).....	61
Figure 42. Spectroscopie d'Absorption Atomique SAA (Shimadzu AA-6300)	61
Figure 43. Longueur des parties aériennes des plantules mycorhizées (M) et non mycorhizées (NM) en fonction du taux de pollution.....	74
Figure 44. Longueur des parties aériennes des plantules mycorhizées (M) et non mycorhizées (NM) en fonction du taux de pollution.....	74
Figure 45. Biomasse des parties aériennes des plantules mycorhizées (M) et non mycorhizées (NM) en fonction du taux de pollution.....	76

Figure 46. Biomasse des parties racinaires des plantules mycorhizées (M) et non mycorhizées (NM) en fonction du taux de pollution.....	76
Figure 47. Photographies représentant les différentes plantules mycorhizées (M) et non mycorhizées (NM) obtenues après six mois de culture en fonction du taux de pollution de la mine abandonnée de Kettara.....	78
Figure 48. (A) Divers morphotypes des apex ectomycorhiziens vus sous stéréomicroscope .	80
Figure 49. Apex mycorhizien de la racine du pin d'Alep vu sous microscope optique	81
Figure 50. Taux de mycorhization des plantules de <i>Pinus halepensis</i> en fonction du taux pollution.....	82
Figure 51. Corrélation linéaire entre la longueur des racines mycorhiziennes et la colonisation mycorhizienne des racines de <i>Pinus halepensis</i>	83
Figure 52. Corrélation linéaire entre la biomasse racinaire mycorhizienne et le taux de mycorhization des racines de <i>Pinus halepensis</i>	84
Figure 53. Corrélation linéaire entre le nombre d'apex mycorhiziens et le taux de mycorhization des racines de <i>Pinus halepensis</i>	85
Figure 54. Moyenne et écart type des concentrations de phosphore dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM).....	92
Figure 55. Moyenne et écart type des concentrations de calcium dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)	92
Figure 56. Moyenne et écart type des concentrations de soufre dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM).....	93
Figure 57. Moyenne et écart type des concentrations de de potassium dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)	93
Figure 58. Concentrations de cuivre dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)	94
Figure 59. Concentrations de plomb dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)	94
Figure 60. Concentrations de plomb dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)	95
Figure 61. Concentration en plomb, dans les parties racinaires	96
Figure 62. Concentration en plomb dans les parties aériennes.....	97
Figure 63. Concentration en cuivre dans les parties racinaires	98
Figure 64. Concentration en cuivre dans les parties aériennes.....	98
Figure 65. Concentration en cadmium dans les parties racinaires.....	99
Figure 66. Concentration en en cadmium dans les parties aériennes	99
Figure 67. Concentration en zinc dans les parties racinaires.....	100
Figure 68. Concentration en zinc dans les parties aériennes	100

Figure 69. Facteur de translocation (FT) de Cu, Zn, Pb des plantules mycorhiziens de P.halepensis cultivés dans différents taux de pollution du SMK.	102
Figure 70. Facteur de translocation (FT) de Cu, Zn, Pb des plantules non mycorhiziens de P.halepensis cultivés dans différents taux de pollution du SMK.	102
Figure 71. Facteur de bioaccumulation (FB) de Cu, Zn, Pb des plantules mycorhiziens	103
Figure 72. Facteur de bioaccumulation (FB) de Cu, Zn, Pb des plantules non mycorhiziens	103

LISTE DES ABRÉVIATIONS

FB	: Facteur de Bioaccumulation
CEM	: Champignon Ectomycorhizien
CM	: Champignon Mycorhizien
CE	: Conductivité Électrique
CMA	: Champignon Mycorhizien Arbusculaire
Eq.	: Équation
ETM	: Élément Trace Métallique
ISO	: Organisation Internationale de Normalisation
TOC	: Total Organique Carbone
M	: Mycorhize
MA	: Mycorhizes Arbusculaires
MK	: Mine de Kettara
MO	: Matière organique
MS	: Matière sèche
NM	: Non Mycorhize
NTK	: Azote Total Kjeldahl
PA	: Partie Aérienne
PR	: Partie Racinaire
<i>P.halepensis</i>	: <i>Pinus halepensis</i>
Reac.	: Réaction
SMK	: Sol de la Mine de Kettara
SAA	: Spectromètre d’Absorption Atomique
t6	: Six mois de culture
t0	: Avant de culture
FT	: Facteur de Translocation
[..]	: Concentration
%CEM	: Pourcentage de colonisation ectomycorhizienne

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Actuellement, l'environnement naturel sauvage de la Terre est perturbé et les constituants de l'écosystème terrestre dans leur totalité ont connu des déséquilibres intenses. Cette perturbation est due essentiellement aux activités humaines qui représentent le maillon clé de ces désordres. L'Homme dès son apparition sur la Terre a cherché à faire évoluer les techniques de vivre en exploitant les différentes ressources naturelles mais cela ne s'arrête pas seulement au niveau de la satisfaction des besoins physiologiques qui sont à la base des besoins humains. De plus avec l'évolution de la culture, la science et aussi l'explosion démographique, la situation devient de plus en plus compliquée et l'exploitation des ressources naturelles augmente. Cette exploitation a non seulement donné naissance à de nouveaux produits bénéfiques, mais a également généré des produits nocifs tels que des déchets qui peuvent être disséminés dans l'environnement sans aucun traitement. Au début, l'effet de ces déchets était négligeable en raison de leur faible quantité, mais avec le temps, cette quantité devient plus importante et plus répandue dans l'environnement. Cela a entraîné une énorme pollution et un impact négatif sur la santé humaine, les autres êtres vivants et l'environnement naturel.

Au Maroc, de nombreuses mines et gisements sont encore en activité produisant différents éléments métalliques tels que Cd, Zn, Cu, Fe, Pb, ... mais certains gisements ont été abandonnés. Parmi ces derniers, la mine de Kettara (MK) qui est un ancien gisement abandonné situé dans la région de Marrakech. Il contient une trentaine d'hectares de rejets polymétalliques, essentiellement des rejets miniers sulfureux dont la quantité est estimée à environ trois millions de tonnes (Hakkou et al. 2008a. ; Lghoul et al., 2012 ; Khalil et al., 2013 ; Midhat et al., 2016). Ces déchets miniers contiennent des métaux lourds qui ont un effet néfaste sur les organismes vivants (S Nfissi et al., 2017). De nombreuses études physicochimiques intéressant ce gisement ont révélé une teneur élevée en métaux lourds supérieure aux valeurs définies par les normes européennes (Hakkou et al. 2008; Esshaimi et al. 2012a; Khalil et al. 2013 ; Council Directive of the European Communities (86/278/EEC) 1986). D'après les caractères physico-chimiques présents dans ce gisement la mine abandonnée de Kettara constitue un terrain propice pour les chercheurs qui s'intéressent aux thèmes de la réhabilitation et de la restauration des sites miniers (Midhat et al., 2016 ; Boularbah et al., 2018; Zine et al., 2018).

D'un point de vue législatif, le Maroc, comme presque tous les pays, dispose d'un programme général de protection de l'environnement comme préalable à leur politique de développement durable. Citons la loi cadre n° 99-12 portant Charte Nationale de

l'Environnement et du Développement Durable. On peut également citer la loi 33-13 relative aux Mines. En plus de ces lois il existe des normes internationales comme la norme ISO 14000 qui concerne le système de management environnemental.

Actuellement, pour la réhabilitation d'un site minier, plusieurs stratégies ont été adoptées notamment celles développant les techniques naturelles innovantes moins coûteuses que les techniques traditionnelles (Salt et al 1998). Parmi ces méthodes on trouve la phytoremédiation dont le mot "phytoremédiation" se compose de deux parties « phyto = plante » « remédiation = correction » (Cunningham et al. 1996 ; Erakhrumen 2007). Son principe est basé sur l'utilisation de la capacité des plantes à adsorber et à stocker les nutriments et l'eau ainsi que sur son interaction avec les constitutions de sa rhizosphère.

Dans la nature, plus de 80% des angiospermes et presque tous les gymnospermes sont connus pour avoir des associations symbiotique avec les micro-organismes présents dans sa rhizosphère, notamment les champignons (Barman et al., 2016). La nouvelle structure ainsi créée est communément appelée mycorhize. Cette symbiose donne à la plante un pouvoir supplémentaire qui lui permet de vivre dans des conditions plus stressantes. Ce qui est le cas du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Miller) qui a eu la capacité de créer des relations symbiotiques avec des espèces de champignons ectomycorhiziens (CEM). En outre le pin d'Alep est le résineux le plus répandu et le plus connu dans le bassin méditerranéen où il couvre environ 3,5 millions d'hectares.

L'amélioration de la qualité des sols est un enjeu majeur pour les chercheurs comme pour les agriculteurs. En effet, parmi les méthodes utilisé pour améliorer la qualité du sol, il y a ce que l'on appelle l'ajout d'additifs ou d'amendements organiques ou inorganiques au sol permettant de faire évoluer positivement ses caractéristiques physico-chimiques telles que l'amélioration de sa fertilité ainsi que l'immobilisation de certains types de contaminants. Parmi les amendements utilisés dans le domaine agricole, on trouve le sable qui joue le rôle d'un moyen de neutralisation des sols acides grâce essentiellement à sa teneur en carbonate de calcium CaCO_3 (González et al., 2012; Tozsín et al., 2014).

La présente étude vise à mettre en œuvre une technique basée sur la capacité des plantes (*Pinus halepensis*) d'absorber et de stocker les nutriments, l'eau et aussi les éléments traces métalliques (ETMs), ainsi que sur leurs interactions avec leur environnement extérieur, notamment leur relation mutuelle (ectomycorhize) avec certains micro-organismes (*Scleroderma*) proliférant au niveau de leur rhizosphère (L Ouahmane et al., 2007). En plus,

l'ajout du sable comme amendement permet d'effectuer un changement dans la structure du substrat de culture. Par conséquent, notre principal objectif est de réduire le niveau élevé d'éléments toxiques présents dans le sol de la mine de Kettara (SMK) par l'une des techniques de phytoremédiation, avec l'ajout de spores en suspension et de sable.

Le document de la présente thèse est structuré en quatre chapitres commençant par une introduction générale.

Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique qui consiste, en premier lieu, à présenter un état des connaissances générales sur le sol, la pollution par les résidus miniers, la toxicité des ETMs. Ensuite, nous présentons un aperçu général des différentes techniques de phytoremédiation ainsi que leurs avantages et inconvénients et également les stratégies d'amélioration de la technique de phytoremédiation. Des notions générales sur l'espèce *Pinus halepensis* sont ensuite présentées. Ce chapitre est clôturé par un rappel sur les mycorhizes, essentiellement les ectomycorhizes.

Le deuxième chapitre est destiné à la description du matériel et des méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail de recherche. Ainsi, nous avons commencé par la présentation du site d'étude. Ensuite, nous avons procédé par la présentation de la méthodologie d'échantillonnage des sols miniers et des fructifications des champignons *Scleroderma* ainsi que les méthodes d'analyses physico-chimiques, minéralogiques et métalliques. Ce chapitre se termine par la description du principe et de la méthode de calcul des paramètres d'accumulation des métaux lourds.

Les résultats et discussions réalisés dans ce travail de recherche sont présentés dans le troisième et le quatrième chapitre. En effet, le troisième chapitre est consacré notamment au suivi l'évolution des plantules de *Pinus halepensis* selon leurs paramètres de croissance et à la présentation des différents morphotypes d'ectomycorhizes trouvés. Le quatrième chapitre est exclusivement dédié aux résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur le sol et sur la partie racinaire et la partie aérienne de la plante *Pinus halepensis*. Ensuite, on a réalisé une étude sur le transfert des métaux lourds dans les deux parties précédemment citées afin de déterminer l'aptitude de cette espèce à effectuer de la phytoremédiation.

Enfin, nous concluons ce document par la présentation des principaux résultats de ce travail de thèse ainsi que des recommandations et des perspectives essentielles.

CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I Pollution du sol

I.1 Différentes perceptions du sol

La perception du mot sol présente différentes significations selon les préoccupations, la culture, les connaissances et les époques. En effet, on ne peut pas trouver une conception unique pour le terme sol. C'est pour cela que les chercheurs comme Hartemink (2016) ont essayé de compiler presque 81 définitions du sol depuis l'année 1800 dans un chapitre nommé *"The Definition of Soil Since the Early 1800s"*. Hartemink a fini par donner la définition générale suivante qui englobe tous les concepts du sol : "Le sol est une entité naturelle vivante contenant des solides, de l'eau (ou de la glace) et de l'air. La plupart des sols sont à l'extérieur et sont des systèmes ouverts, mais les sols se trouvent également dans les lacs peu profonds et sous la chaussée. Un sol peut avoir n'importe quelle couleur, n'importe quel âge, être très ou peu profond et il se compose principalement d'un mélange structuré de sable, de limon et d'argile (inorganiques), de roches et de matières organiques (mortes et vivantes). Le sol a un ou plusieurs horizons génétiques, est une partie intrinsèque du paysage qui change au fil du temps. Les sols sont répartis sur la terre principalement de manière systématique ; ils stockent et transforment l'énergie et la matière. Le sol soutient souvent la végétation qui porte toute la vie terrestre et produit la majeure partie de notre nourriture. Il fait partie intégrante du monde naturel en interaction avec le climat, la lithosphère et l'hydrosphère. Les sols sont souvent résultats de combinaisons avec l'utilisation des terres, le climat, la géomorphologie ou l'hydrologie d'une zone" (Hartemink, 2016).

I.2 Constituants du sol

Le sol est un système hétérogène, multiphase, dispersé et poreux. Il est constitué de quatre phases : solide, liquide, gazeuse et une phase vivante composée d'organismes qui participent au métabolisme du sol. En outre, on distingue dans les sols non saturés l'interface air-eau comme une phase indépendante (ou peau contractile) (Fredlund & Rahardjo, 1993). Les phases jouent un rôle important dans la formation, les propriétés physiques et les processus du sol. La répartition des phases solides, gazeuses et liquides dans le profil du sol crée la structure du sol. Lorsque le sol est sec, seules les particules solides et l'air dans les pores sont présents, créant une composition biphasée. Les phases ont un volume et un poids propres (à l'exception de la phase air), et elles ne se répartissent pas uniformément dans le sol (*Figure 1*).

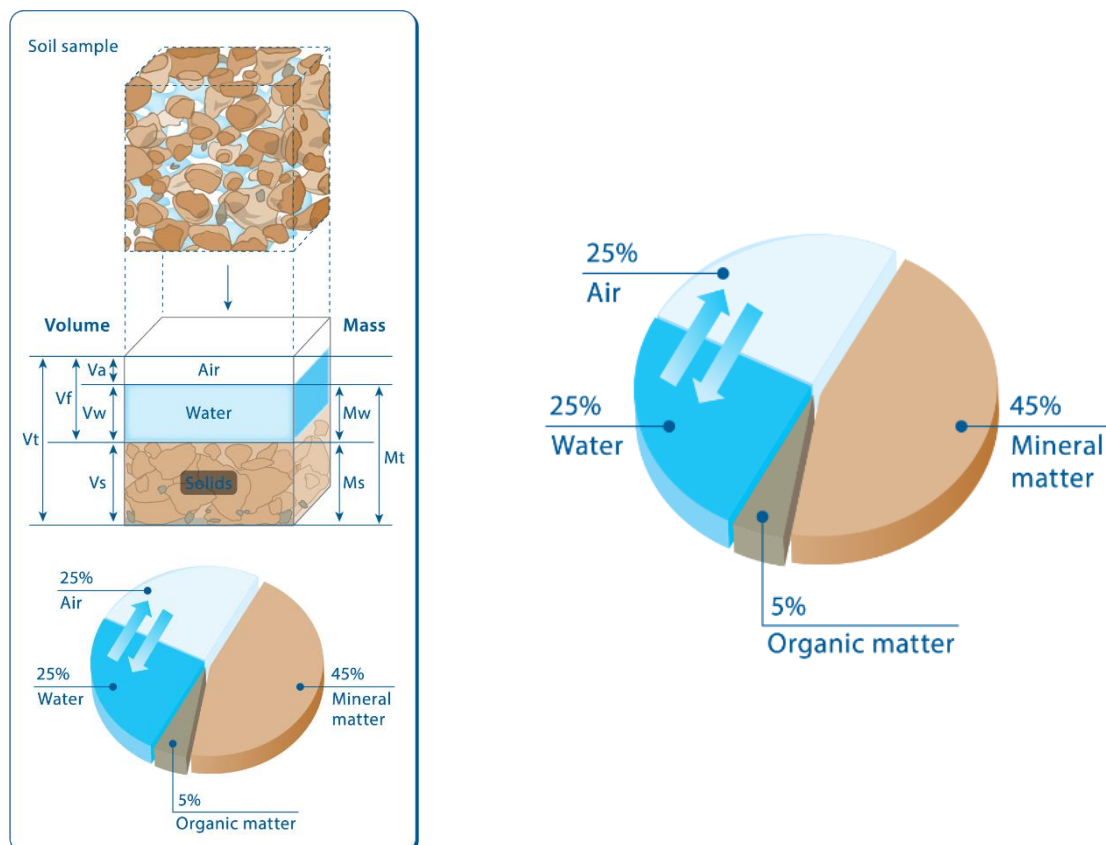


Figure 1. Schéma des constituants d'un échantillon de milieu poreux insaturés sur une base volumétrique et massique
<https://open.oregonstate.edu>

1.2.1 Phase solide du sol

Avec des proportions variables la phase solide du sol représente environ un demi à deux tiers du volume du sol et est constituée de matières solides. Plus de 90% de cette matière solide est généralement sous forme des composés inorganiques, à l'exception des histosols (sols tourbeux), où les matières organiques représentent plus de 50% de la matière solide (Sposito, 2008).

1.2.1.1 Minéraux

Les géologues et les chimistes s'accordent bien pour considérer le sol comme le résultat de l'abrasion, de la désintégration et de la décomposition des roches (Simonson, 1968). En fait, si nous connaissions la composition des roches dont il provient, nous déterminerions les composants minéraux du sol. La lithosphère est la couche superficielle de la Terre, elle se compose essentiellement à peu près de 99% de ces éléments (O, Si, Al, Fe, Ca, Na, K, Mg, Ti et P). En outre, les autres éléments (68 éléments minéraux) sont présentes à l'état de traces (< 0,1 %) ce qui explique leurs désignation sous le terme « éléments traces » autrement ces derniers peuvent porter le terme ETM, même si tous les éléments traces ne soient pas des métaux (Kirpichtchikova, 2009).

En fonction de leur interaction avec les éléments organiques et minéraux du sol, les ETMs peuvent être groupés en 3 catégories : i) Les éléments «essentiels» qui ont un rôle indispensable pour la croissance pour une bonne reproduction des organismes vivants (Hänsch & Mendel, 2009), ii) Les éléments "non essentiels" qui sont, à certaines concentrations, toxiques pour les êtres vivants (Mendoza-Cózatl & Moreno-Sánchez, 2005), iii) Les éléments «indifférents» qui ont un effet ni bénéfique ni néfaste.

1.2.1.2 Matières organiques

Les matières organiques sont classées dans la phase solide car elles ne sont ni liquides ni gazeuses. Elles proviennent principalement des résidus de végétaux qui subissent diverses transformations physiques et chimiques et leur teneur dans le sol est toujours plus grande dans la surface et décroît avec la profondeur (Calvet, 2003).

Les propriétés biologiques du sol liées à l'activité microbienne et faunistique du sol. Ces organismes comprennent les vers de terre, les nématodes, les protozoaires, les champignons, les bactéries et divers arthropodes. La biologie du sol joue un rôle clé dans la détermination de nombreuses caractéristiques du sol, mais comme il s'agit d'une science relativement nouvelle, il reste encore beaucoup à découvrir sur la biologie du sol et sur la manière dont elle affecte la nature du sol. Les organismes du sol décomposent la matière organique et, ce faisant, libèrent des éléments nutritifs que les plantes peuvent absorber. Le stockage des nutriments dans le corps des organismes du sol empêche la perte de nutriments par lessivage. Les microbes maintiennent également la structure du sol, tandis que les vers de terre jouent un rôle important dans la bioturbation du sol. Les bactéries jouent un rôle essentiel dans le cycle de l'azote qui affecte : la minéralisation, la nitrification, la fixation d'azote, la dénitrification.

Les microbes qui vivent dans le sol recyclent les éléments nutritifs tels que le carbone et l'azote dans le système du sol. Une grande partie de la matière organique ajoutée chaque année à la litière (matériau accumulé à la surface du sol) ou dans la zone racinaire est presque entièrement consommée par les microbes.

1.2.2 Phase liquide du sol

La phase liquide dans le sol ne se compose pas d'eau pure, mais il s'agit d'une solution complexe et très variable, généralement appelée «solution du sol». Elle comporte de très nombreuses substances dissoutes organiques et inorganiques, ionisées et non ionisées (Pérez-Bendito & Rubio, 1999; Sposito, 2008).

I.2.3 Phase gazeuse du sol

L'atmosphère du sol est un autre nom de la phase gazeuse du sol car sa composition est semblable à celle de l'air avec des proportions différentes en raison de l'activité biologique et en fonction de la profondeur. La composition de l'atmosphère du sol peut changer en raison de la dissolution du gaz dans la phase liquide. La solubilité des gaz dans l'eau dépend du type de gaz, de la température, de la concentration en sel et des pressions partielles des gaz dans l'atmosphère. Les gaz les plus solubles dans l'eau sont ceux qui s'y ionisent (CO_2 , NH_3 , H_2S), mais les gaz diatomique notamment l'oxygène et l'azote (O_2 et N_2) sont beaucoup moins solubles (Pérez-Bendito & Rubio, 1999).

I.3 Polluants métalliques dans le sol

I.3.1 Pollution du sol par les ETMs

Les polluants que l'on retrouve dans le sol peuvent être d'origine naturelle et/ou anthropogénique, c'est-à-dire produits par les activités humaines. Selon Juste (1988) la différence entre polluant et contaminant est basée sur l'effet des apports anthropiques sur l'environnement. En effet, le terme "contamination" est utilisé quand les apports anthropiques sont marquants mais sans effet distinct pour l'environnement. En revanche, le terme «pollution» est employé lorsque des apports anthropiques ont des effets néfastes sur l'environnement. Ramade (1993), a défini le contaminant comme un polluant dispersé clairement dans l'environnement par des quantités importantes. Rivière (1998) a utilisé le mot polluant comme un élément dangereux qui peut présenter un risque pour l'environnement et les êtres vivants. Parmi les polluants du sol, nous citons les métaux lourds qui, d'une façon générale, ont la réputation d'être des éléments toxiques alors que certains sont des oligo-éléments. De plus, certains éléments sont qualifiés de métaux lourds alors que ce sont des métalloïdes comme le sélénium et l'arsenic et d'autres ne sont pas «lourds» comme le béryllium et l'aluminium (Walker et al. 2012, Migeon, 2009). Il importe de rappeler ici qu'un métal est considéré comme lourd, lorsque sa densité par rapport à l'eau est supérieure à 5 g.cm^{-3} (Lemière et al., 2001).

La notion de métal lourd a commencé par être remplacée peu à peu par le terme générique ETM (Hooda, 2010) qui se réfère aux métaux et métalloïdes réputés toxiques et qui présentent généralement une concentration inférieure à 1 g.kg^{-1} (D. C. Adriano, 1986). Les ETMs ont attiré l'attention du monde entier et sont devenue un problème environnemental préoccupant au cours des dernières décennies. Ils représentent ensemble seulement 0,6% du

total de la croûte terrestre alors que les 12 éléments majeurs (Si, Al, Fe, Ca, Na, Mg, K, Ti, P, Mn, S et Ba) interviennent pour 99,4% (Alloway, 1995; Baize, 2009). La majorité des ETMs présents dans les sols appartient à la famille chimique des métaux et métalloïdes et sont considérés comme toxiques pour l'Homme et l'environnement, mais seulement une partie d'entre eux présente un intérêt écologique, biologique ou économique (Domy C. Adriano, 2001; Midhat, 2018).

I.3.2 Valeurs limites et admissibles des ETMs dans le sol

Les ETMs ont des concentrations diverses selon un certain nombre des critères. En effet, les chercheurs ont mesuré les valeurs limites et admissibles des ETMs dans des différentes parties de la Terre. Le *Tableau 1* présente les concentrations de certaines ETMs (Cu, Cd, Pb et Zn) dans la croûte terrestre dans les sols pour différentes utilisations (Council Directive of the European Communities (86/278/EEC), 1986; Kabata-pendias & Pendias, 2001).

Tableau 1. Concentrations moyennes des ETMs (mg.Kg⁻¹ Matière Sèche) dans la croûte terrestre et valeurs limites dans les sols pour différentes utilisations.

ETM	Croûte continentale supérieure ^{1,2}	Épandage des boues d'épuration ³	Sol agricoles ^{4,5} (mg.Kg ⁻¹)
Cu	25	100	140
Zn	71	300	300
Pb	17	100	300
Cd	0.1	---	3

¹ Concentration moyenne des ETMs dans la croûte continentale supérieure (McLennan, 2001).

² Concentrations moyennes naturelles des ETMs dans les roches (Pinta, 1962).

³ Valeurs limites de concentration en ETMs pour l'épandage des boues d'épuration (France: Arrêté du 8/01/1998)

⁴ Concentrations maximales admissibles pour les sols agricoles (Kabata-Pendias et al., 2001).

⁵ Les concentrations maximales admissibles des ETMs dans les sols agricoles selon la directive européenne 86/278/EEC (Council of the European Communities 1986).

I.3.3 Comportement des polluants dans les sols

Le comportement des polluants en milieu naturel dépend étroitement non seulement des propriétés intrinsèques des polluants (spéciation minérale par exemple), des propriétés intrinsèques des milieux transversaux, des interactions entre les polluants et l'environnement, mais également des conditions locales (pour exemple les précipitations) qui affectent la mobilité. La connaissance du comportement des polluants a donc un impact majeur en termes d'évaluation des risques : vitesse de propagation, extension de la pollution, nombre de cibles atteintes. Les principaux facteurs influençant le comportement des contaminants (organiques ou inorganiques) sont leurs caractéristiques physicochimiques intrinsèques, en particulier la solubilité dans l'eau, la densité, la stabilité, l'hydrophobicité, le coefficient d'absorption du

carbone organique du sol, la volatilité, l'ionisation continue et la viscosité (Lemière et al., 2001).

I.3.4 Origines des polluants

I.3.4.1 Origine naturelle

Les roches mères contiennent naturellement, selon la nature de la roche, son âge et sa localisation, différentes concentrations en ETMs qui sont libérés lors des altérations des roches pour produire le fond géochimique naturel (*Figure 2*) (Huynh, 2009).

I.3.4.2 Origine anthropique

Le mot origine anthropique selon Larousse se dit d'un paysage, d'un sol, d'un relief dont la formation résulte essentiellement de l'intervention de l'Homme. En effet, les différentes activités humaines constituent l'origine anthropique des métaux qui se dispersent dans l'environnement et représentent l'origine principale de ce type de pollution (Huynh, 2009).

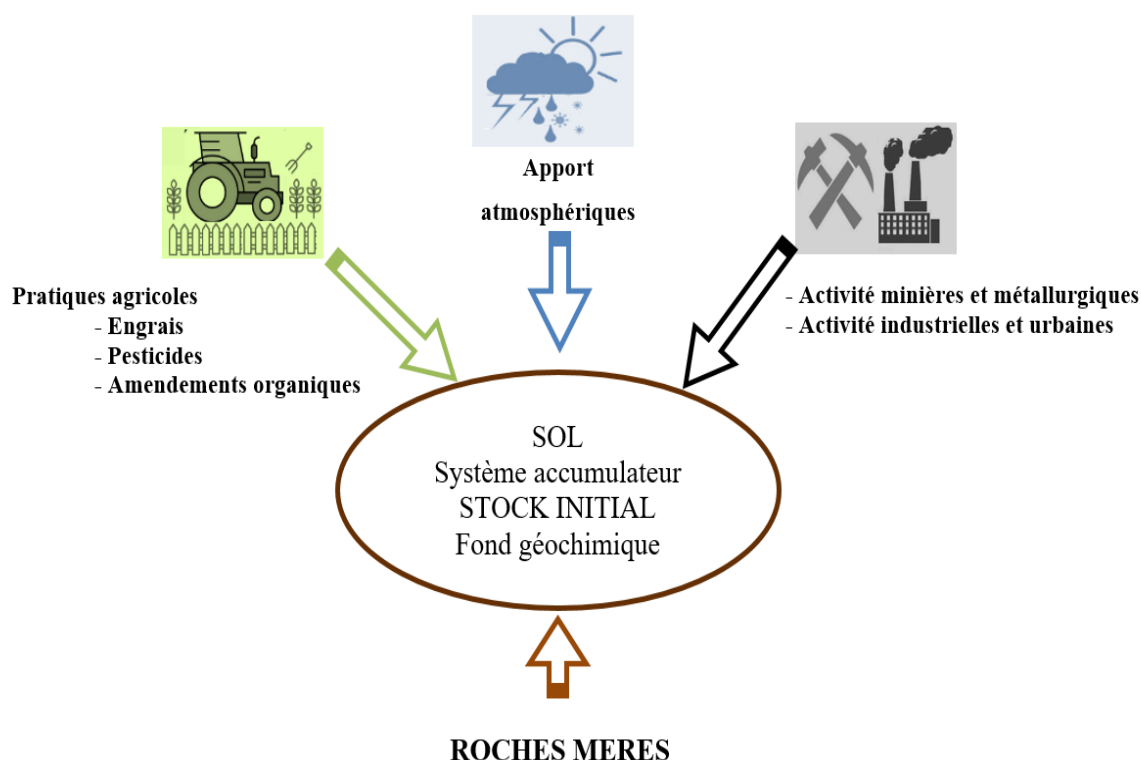


Figure 2. Origines des ETMs dans le sol
(D'après Robert et Juste, 1999)

Actuellement, le sol devient un organisme environnemental menacé de destruction à cause du lourd héritage du passé et aussi par l'extension et la diversification des activités anthropiques. Par conséquent, la recherche de solutions pour corriger et remédier les effets de

cette destruction est devenue primordial. Ainsi, depuis la première réunion internationale tenue en 1985 aux Pays-Bas sous le thème "les sols pollués" (Nouri & Haddioui, 2016), les chercheurs ont clairement manifesté une prise de conscience renouvelée des différentes contraintes qui menacent la nature. En revanche, ils ont conseillé les décideurs d'appliquer d'éventuels moyens et procédés pour réduire le taux de pollution en maîtrisant les actions polluantes en amont et en aval avant leur rejet dans la nature.

I.4 ETMs et plantes

I.4.1 Voies d'absorption

I.4.1.1 Absorption racinaire

L'absorption racinaire des ETMs s'effectue essentiellement grâce à des poils formés par des élongations des cellules de l'épiderme qui permettent d'augmenter la surface d'échange entre les racines et le sol. Des études ont montré qu'il existe une zone de l'extrémité de racine où la vitesse d'absorption est plus élevée que dans d'autres parties des racines (Kirpichtchikova, 2009). Selon Lasat (1998), le prélèvement de la majorité des ETMs se fait sous des formes ioniques : cationiques (Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}) ou anioniques (HSO_4^-). Au niveau de la racine (*Figure 3a*), les ETMs peuvent être transportés par voie symplastique (à l'intérieur de la cellule) et apoplastique (à l'extérieur de la cellule) (Prasad, 2004). La sève xylémienne est le principal moyen de transport des ions minéraux des racines vers les parties aériennes (*Figure 3b*).

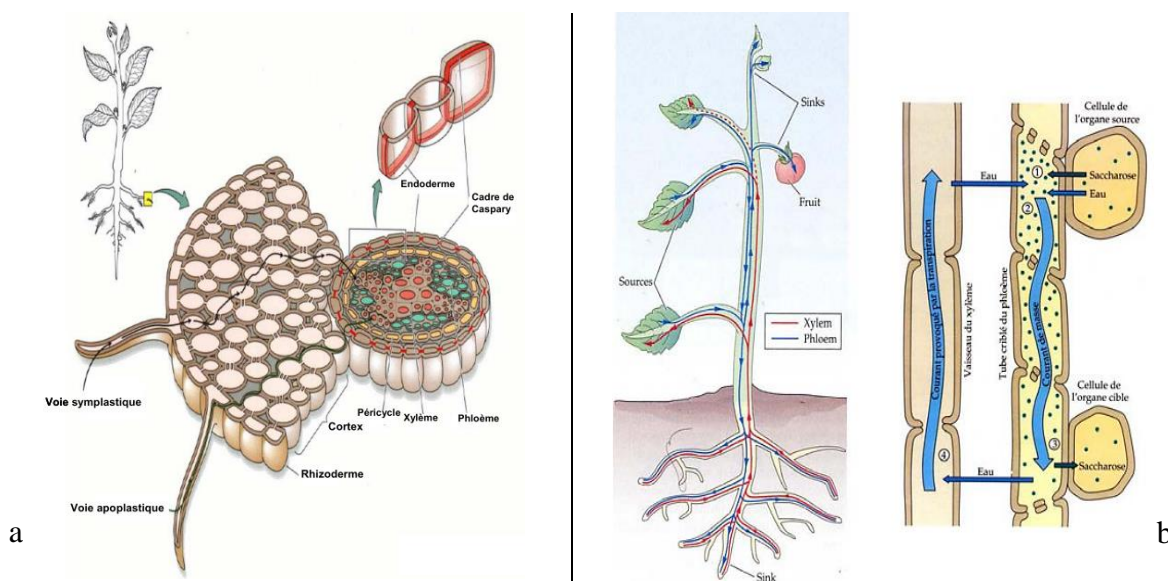


Figure 3. Transport radial dans la racine (a) et transport vertical dans la plante entière (b) d'après (a) (Taiz & Zeiger 2006) et (b) (Meyer et al., 2008)

1.4.1.2 Absorption foliaire

La partie aérienne des plantes (*Figure 4*) peut aussi participer dans l'absorption des ETMs, surtout ceux présents dans l'atmosphère. Cette absorption foliaire des ions métalliques résulte de leur passage à travers les stomates des feuilles après acheminement via la cuticule (M. Prasad, 2004).

1.4.2 Impact des ETMs sur les plantes

Les éléments minéraux sont indispensables aux plantes, certains constituent les nutriments majeurs, nécessaires en quantités élevées (macro-éléments : N, K, P, Ca, Mg, S) et autres forment les nutriments mineurs, consommés généralement en faibles quantités (oligo-éléments : Fe, Mn, B, Zn, Cu, Mo, Cl, Na, Ni et Co). En plus d'autres éléments tels que, Pb, Cd, Hg sont dits « non essentiels », car ils ne participent à aucune fonction physiologique ou biochimique connue (Marschner, 1995). Cependant, la présence de ces métaux à des taux élevés peut engendrer d'importants dégâts sur les plantes pouvant entraîner leur mort (phytotoxicité) à cause du ralentissement de leur croissance et des perturbations morphologiques (Baker & Walker, 1989). Le *Tableau 2* regroupe les principaux symptômes révélés, à cause d'un excès élevé de métaux, dans les différents organes chez les angiospermes. Ces symptômes apparaîtraient essentiellement dans la morphologie de la plante spécifiquement à leur couleur, car on constate d'après les résultats d'Alina Kabata-Pendias (1992) par exemple qu'un excès de Cd, Cu, Pb et Zn se traduit d'une façon directe par un changement de couleur des feuilles en plus des perturbations dans la fonction normale des plantes.

Tableau 2. Principaux symptômes d'un excès de métaux chez les angiospermes (Alina Kabata-Pendias, 1992; Aude, 2009; Migeon, 2009)

Éléments métalliques	Ordre de grandeur de la teneur normale en mg.kg ⁻¹ de masse sèche	Symptômes d'un excès de métaux chez les angiospermes
Cd	0,05 à 0,2	-Chlorose et enroulement des feuilles, brunissement sur les bords des feuilles -Réduction générale de la croissance
Cu	5 à 30	-Jeunes feuilles vert foncé avec des points nécrosés
Pb	5 à 10	-Feuilles vert foncé, flétrissement des vieilles
Zn	27 à 150	-Retard de croissance -Perturbation de la fructification -Feuilles âgées blanc vert

Généralement, les ETMs se présentent d'une façon excessive dans un sol pollué et sont essentiellement prélevés à l'état de solutés dans la solution du sol par un processus physiologique qui permet ainsi l'entrée de ces éléments dans la plante par absorption (Marschner, 1995). L'organe responsable de ce processus est la racine de la plante qui est habituellement invisible et enterrées dans la terre et il est moins étudié que les autres parties de la plante. Leur contacte directe avec le sol rhizosphérique et ces constituants leur permet d'être exposée en premier et directement au taux élevé des ETMs,

I.5 Techniques de remédiation des sols contaminés en ETMs

Le niveau élevé d'ETMs dans le sol peut engendrer divers problèmes pour l'environnement, nécessitant l'application de techniques de remédiation qui suggèrent des solutions pour traiter l'héritage des erreurs et la méconnaissance des effets néfastes de ces polluants. Ces techniques sont généralement classées en trois catégories les techniques physiques, chimiques et biologique (Mahar et al., 2016). La mise en œuvre, le coût et l'efficacité de ces techniques sont différents selon la nature et la concentration des polluants, la localisation et accès au site, les caractéristiques du sol et les dimensions du site (Wuana & Okieimen, 2011).

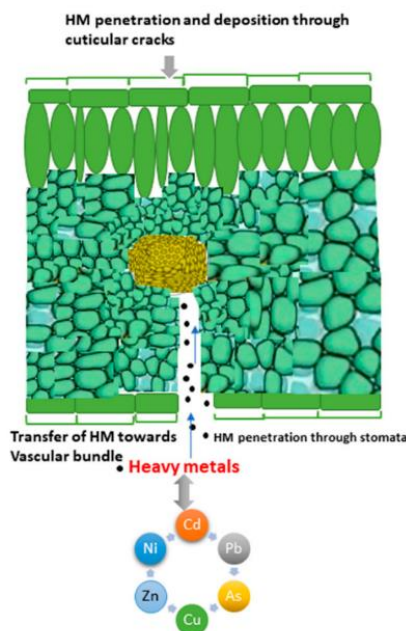


Figure 4. Voie d'absorption foliaire des ETMs
D'après (Hasan et al., 2019)

I.5.1 Techniques physiques

Certaines techniques physiques, dont l'incinération, l'excavation, la vitrification, le confinement et l'électromigration (Ali et al., 2013), piègent ou dégradent les polluants afin

qu'ils ne présentent plus de danger. profitent également des caractéristiques physiques de l'environnement et des polluants dans le but par exemple que ces derniers soient séparés du sol ou bien soient concentrés dans le sol.

I.5.2 Techniques chimiques

Les techniques chimiques telles que la lixiviation par des acides, l'immobilisation par apport d'amendements organiques ou inorganiques, utilisent les propriétés chimiques des polluants afin de les rendre inertes, de les détruire ou de les séparer du milieu contaminé (Wuana & Okieimen, 2011). Malheureusement, ces techniques sont souvent coûteuses, difficiles à mettre en place et destructrices pour l'environnement (Hazrat et al., 2013).

I.5.3 Techniques biologiques

Les techniques biologiques se basent essentiellement sur l'utilisation des propriétés et des caractéristiques d'un organisme vivant. Ce dernier peut être un végétal (algues, plantes, arbres), un micro-organisme (bactérie, champignon) ou bien une association symbiotique entre eux, voir un animal (vers de terre). L'action des organismes vivants envers les polluants peut s'effectuer par différents mécanismes tels que l'absorption, l'adsorption, l'accumulation, la digestion, la transformation, la dégradation et l'évapotranspiration pour les rendre moins toxiques. Ces mécanismes sont regroupés dans les techniques nommés "bioremédiation".

I.6 Aspects législatifs pour la protection contre la pollution

De point de vue législatif, au Maroc la loi-cadre n° 99-12 portant Charte Nationale de l'Environnement et du Développement Durable prévoit principalement le renforcement, la protection et la préservation des ressources et des milieux naturels et l'étude préventive de lutte contre les pollutions et les nuisances (Bulletin-Officiel 2014). Également, la loi 33-13 relative aux Mines exige dans son article 52 que l'exploitation doit s'effectuer avec des méthodes rationnelles et des règlements basés sur l'hygiène, la sécurité et la protection de l'environnement (Bulletin-Officiel 2015). Par ailleurs, la norme internationale ISO 14000 relative au Système de Management Environnemental aide les organismes à améliorer leur performance environnementale grâce à une utilisation plus rationnelle des ressources et à la réduction des déchets, gagnant par là même un avantage concurrentiel et la confiance des parties prenantes (ISO, 2015).

II Phytoremédiation

II.1 Historique

La phytoremédiation est une technique de décontamination qui utilise des plantes vasculaires, des algues (phycoremédiation) ou des champignons (mycoremédiation), pour éliminer, contenir, ou réduire la toxicité des polluants organiques (naturels ou de synthèse) et inorganiques (ETMs, radionucléides).

La phytoremédiation est un concept très ancien puisqu'il y a 300 ans que les Hommes utilisaient déjà les capacités épuratoires des plantes pour le traitement de l'eau. Au 16^{ème} siècle, Andréa Cesalpino (1524-1603), un botaniste florentin, a découvert une plante poussant sur des roches naturellement riches en métaux notamment le nickel (Kirpichtchikova, 2009). Entre 1814 et 1948, cette plante nommée *Alysum bertolonii* a été intensément étudiée par des scientifiques qui ont découvert alors que son organisme accumule une forte teneur en métaux plus importante que celle dans le sol où elle vit. Cette découverte a donné la naissance à un nouveau concept à cette époque (Dabouineau et al., 2005) par lequel les chercheurs ont mis l'accent sur le rôle de l'utilisation de la plante comme un moyen biologique de la dépollution. Par la suite, Baumann a déclaré, en 1885, que l'espèce *Thlaspi caerulescens* et *Viola calaminaria* sont les premières espèces végétales documentées qui ont le pouvoir d'accumuler des quantités élevées de métaux dans leurs feuilles (Purakayastha and Chhonkar 2010; Baumann A ,1885).

En 1935, Byers a montré que les plantes du genre *Astragalus* étaient capables d'accumuler jusqu'à 0,6% de sélénium dans la biomasse de pousses sèches (P. Sharma & Pandey, 2014). Une décennie plus tard, Minguzzi et Vergnano (1948) ont également identifié des plantes pouvant accumuler jusqu'à 1% de nickel dans les parties aériennes. Par la suite, Rascio (1977) a prouvé que l'espèce *Thlaspi caerulescens* a une tolérance élevée au zinc et qu'elle peut l'accumuler dans ses parties aériennes (Purakayastha & Chhonkar, 2010).

Le concept de l'utilisation des plantes pour la remédiation des ETMs et autres polluants a été signalé pour la première fois en 1983 par Chaney (Blaylock, 2008; Yadav & Kumar, 2019). De leur part, Salt et al. (1998) ont mentionné que la technique de phytoremédiation peut être appliquée pour les éléments organiques et inorganiques présents dans des substrats solides, liquides et gazeux. Aux États-Unis, cette technique a été appliquée dans des milliers de sites contaminés comme une solution de remédiation à faible coût (Salt et al., 1998a). Arthur et al. (2005) ont conclu que la compréhension de l'action entre la plante, le

sol et les micro-organismes rhizosphériques donne un pouvoir de succès de la technique de phytoremédiation.

Dans les vingt dernières années les chercheurs ont adopté la phytoremédiation de sorte qu'elle reste une technologie respectueuse de l'environnement et écologiquement responsable, bien acceptée par le public (Hazrat et al., 2013) contrairement aux méthodes traditionnelles physiques et chimiques qui ont des limitations telles que le coût élevé, les changements irréversibles des propriétés du sol, la destruction de la microflore indigène du sol et les problèmes de pollution. Ainsi, avec l'utilisation répandue de la technique de phytoremédiation, les chercheurs ont développé des outils moléculaires pour mieux comprendre les mécanismes d'absorption, de translocation, de séquestration et de tolérance des métaux par les plantes (Hazrat et al., 2013). La technique de phytoremédiation ne reste pas limitée dans les essais *ex situ* mais, les chercheurs ont essayé de l'installer dans des essais *in situ*. Ainsi, Liu et al. (2016) ont montré que pendant quatre ans d'expérience dans un site minier de terres rares la couverture végétale a été améliorée de toute évidence et la biodiversité bactérienne du sol était plus importante qu'avant l'exploitation minière prouvant que la diversité génétique des bactéries était enrichie par la phytoremédiation (*Figure 5*).



Figure 5. Photos montrant les effets de la phytoremédiation dans le site minier de terres rares en 2009 (a), 2010 (b), 2011 (c) et 2012 (d), respectivement (S. Liu et al., 2016)

II.2 Définition de la phytoremédiation

Le terme phytoremédiation a été inventé en 1989 par le Dr Ilya Raskin, Université Rutgers New Jersey, United States (Raskin et al. 1994; Ali et al. 2013; Pandey and Bajpai 2019). Il se compose de deux mots, son étymologie provient du Grec; « phyton »; qui signifie plante et du latin « remedium »; qui désigne corriger, restaurer, remédier ou rétablir de l'équilibre (Devi & Kumar, 2020). En effet, la phytoremédiation est une technique de réhabilitation naturelle qui se base sur l'utilisation de plantes vertes pour éliminer les polluants de l'environnement ou pour les rendre inoffensifs (Cunningham & Berti, 1993; Jana et al., 2018; Salt et al., 1998a). Ainsi, Stomp (1994) a classé la phytoremediation en deux formes : i) Directe: c'est-à-dire la plante participe directement à l'absorption des polluants ; ii) Indirecte : la plante absorbe les polluants via les microorganismes existant dans son environnement (Stomp et al., 1994).

II.3 Différentes stratégies de la phytoremédiation

La phytoremédiation est fondée sur les interactions sol-racine-polluants (Morel, 1990) et elle regroupe toutes les méthodes basées sur l'utilisation de végétaux supérieurs afin de dépolluer les sites contaminés. En effet, d'après la synthèse d'un ensemble d'études effectuées dans le domaine de la biodépollution, les chercheurs ont scindé cette technique en différentes stratégies, les plus utilisées sont: la phytodégradation, phytoextraction, phytostabilisation, phytovolatilisation.

II.3.1 Phytodégradation

C'est un processus de destruction de contaminants organiques tels que les hydrocarbures (insecticides, herbicides) par l'intermédiaire de processus métaboliques de plantes (Devi & Kumar, 2020). Les enzymes secrétées par certaines plantes agissent comme des catalyseurs de la réaction de la dégradation des substances toxiques qui ont subi des modifications de la structure moléculaire pour se transformer en métabolites moins toxiques ou non toxiques. Les enzymes qui agissent dans la phytodégradation sont (Susarla et al., 2002):

- La déshalogénase qui transforme les composés chlorés,
- La peroxydase qui transforme les composés phénoliques,
- La nitroréductase qui transforme les explosifs et autres composés nitrés,
- La nitrilase qui transforme les composés aromatiques avec cyanure,
- La phosphatase qui transforme les pesticides organo-phosphates (J. H. Lee, 2013; Susarla et al., 2002).

Les micro-organismes; champignons (*Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*,...) ou certaines bactéries (*Pseudomonas sp.*, *Xanthomonas sp.*, ...) existent dans le sol et présentent une capacité de dégrader les composés organiques qui subsistent dans le sol. Cette dégradation est réalisée par des enzymes digestives secrétées par ces micro-organismes hétérotrophes se nourrissant sur la dégradation de la matière organique (MO) (Aude, 2009). Cette biodégradation devient plus efficace lorsque ces micro-organismes créent des relations symbiotiques avec des plantes hôtes (Aude, 2009).

Certains chercheurs ont utilisé les noms: la phytostimulation, la phytotransformation et la rhizodégradation pour exprimer la technique de phytodégradation (Gupta et al., 2020; Nouri & Haddioui, 2016; M. N. V. Prasad & Hagemeyer, 1999; P. Sharma & Pandey, 2014):

- **Phytostimulation:** les exsudats racinaires sécrétés par les plantes agissent de diverse façon avec leur environnement. En effet, ces sécrétions peuvent encourager le développement et l'activité des communautés microbiennes présentes dans la partie rhizosphérique. Cette stimulation permet de modifier la bioaccumulation, oxydation/réduction biologique et biométhylation des ETMs (McGrath, 1998)(*Figure 6*).
- **Phytotransformation:** c'est une technique basée essentiellement sur la modification des éléments organiques présents dans l'environnement de la plante. En effet les éléments absorbés par les plantes sont décomposés par l'intermédiaire de leur métabolisme via des enzymes végétales ou des cofacteurs enzymatiques (Susarla et al., 2002). Cela permet des modifications de la structure moléculaire des polluants avec apparition de métabolites. La phytotransformation est indépendante des activités des microorganismes présents autour des racines dans la rhizosphère (Gupta et al., 2020; Susarla et al., 2002)(*Figure 6*).
- **Rhizodégradation :** selon son nom cette technique est basée sur la décomposition des substances toxiques dans la rhizosphère par l'intermédiaire des micro-organismes (Susarla et al., 2002). En effet, les extraits-racinaires sécrétés par les plantes, environ 20% du total des photosynthétiques, y compris les sucres, les acides organiques et les acides aminés (Morikawa & Erkin, 2003), stimulent les micro-organismes présents dans la rhizosphère à dégrader les polluants par leurs réactions métaboliques (Salt et al., 1998a). Diverses espèces microbiennes peuvent digérer des substances organiques et les décomposer en produits non toxiques (Gupta et al., 2020)(*Figure 6*).

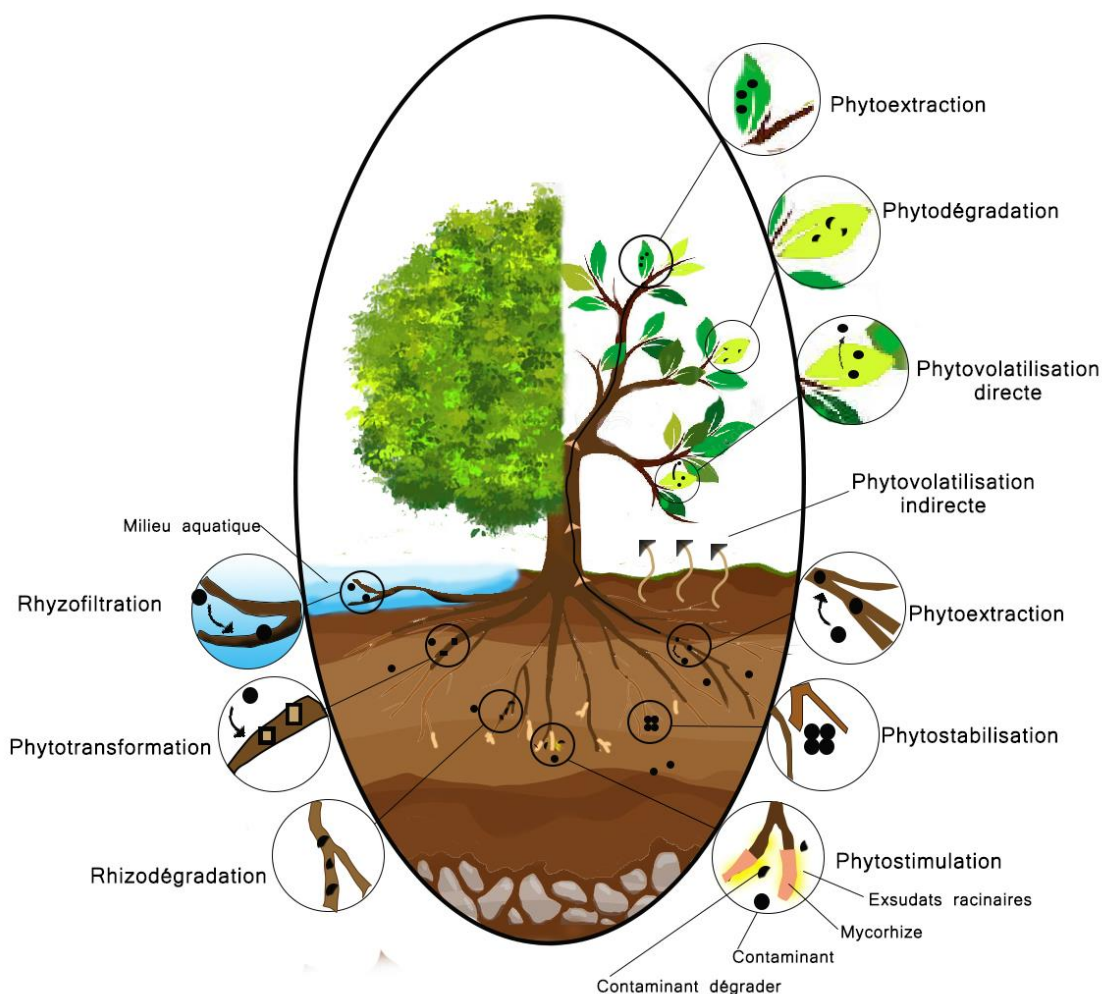


Figure 6. Schéma représentatif de différents types de la phytoremédiation

II.3.2 Phytovolatilisation

En plus de la capacité d'absorption des contaminants organiques et inorganiques (solide ou liquide) via leur système racinaire les plantes peuvent les convertir en formes gazeuses (ex., le diméthylsélénide) pour les relarguer dans l'atmosphère à travers les stomates des feuilles par la transpiration (Agarwal et al., 2018; Kirpichtchikova, 2009)(*Figure 4*). Les composés volatils générés sont moins toxiques que la forme présente dans le sol (B. X. Y. Lee et al., 2020). Ces composés peuvent rester dans l'air comme des polluants ou être dégradés avec des radicaux hydroxyde (Morikawa & Erkin, 2003). La phytovolatilisation existe sous deux formes la phytovolatilisation directe et indirecte. La phytovolatilisation directe se base sur l'absorption de contaminants du sol, en les transformant en composés volatils, qui sont ensuite excrétés dans l'atmosphère par la transpiration des feuilles ou la diffusion radiale à travers les tissus de la tige. La phytovolatilisation indirecte est due à l'activité des racines des plantes envers les contaminants volatils (Grzegórska et al., 2020; Limmer & Burken, 2016)(*Figure 6*).

II.3.3 Phytoextraction

C'est la technique la plus connue dans la phytoremédiation, elle se base essentiellement sur l'absorption des contaminants, biodisponibles dans le sol, via les racines et leur translocation vers les parties aériennes (Lasat, 2002). Il existe deux stratégies de phytoextraction (*Figure 7*), à savoir :

- i) La phytoextraction assistée (induite) ; qui s'effectue à l'aide de chélateurs et de plantes à forte biomasse et à croissance rapide. Les chélateurs sont appliqués lorsque les plantes parviennent à un certain niveau de croissance. En effet, l'ajout de ces produits dans le sol induit l'accumulation des ETMs dans la plante par l'augmentation de leur biodisponibilité (*Figure 7a*).
- ii) La phytoextraction continue, qui se base essentiellement sur les capacités autonomes des plantes génétiques et physiologiques spécialisées dans l'absorption, la translocation et la tolérance ETMs. Cette propriété des plantes a permis l'apparition de la notion de "plante hyperaccumulatrice" (Huynh, 2009)(*Figure 7b*).

II.3.4 Phytostabilisation

La phyto-immobilisation est une méthode de phytoremédiation dite passive car l'action de dépollution n'est pas bien poussée mais elle permet de réduire la migration et l'infiltration des contaminants en limitant l'érosion éolienne, ruissellement et le lessivage du sol. Cette action dépolluante permet de réduire la mobilité et la biodisponibilité des métaux présents dans le sol rhizosphérique ou les immobiliser en les liants chimiquement par précipitation, stabilisation et/ou absorption (Ali et al., 2013; Mahar et al., 2016; Salt et al., 1998b). Cette technique est utilisée lorsqu'une immobilisation rapide est primordiale, notamment pour la préservation des eaux souterraines et de surface (Ghosh & Singh, 2005). Cette stratégie n'est pas une technique de dépollution au sens strict mais un mode de gestion des sites pollués destiné à immobiliser les polluants dans le sol. En effet, elle permet non seulement de minimiser le transfert des polluants en dehors du sol contaminé, mais elle permet également une meilleure intégration paysagère de sites présentant d'importantes contaminations et pour lesquels les autres méthodes ne sont pas applicables (Vangronsveld et al., 2009). Dans ce cadre, l'implantation d'arbres est essentiellement intéressante vue la profondeur et la densité de leur système racinaire et l'efficacité de l'évapotranspiration qui permettent de limiter davantage le lessivage et le ruissellement (Nouri & Haddioui, 2016). Il existe différents mécanismes par lesquels les plantes immobilisent les métaux dans le sol

comme les précipitations dans la rhizosphère, l'absorption et accumulation par les racines et adsorption sur racines (Yoon et al., 2006)(Figure 6).

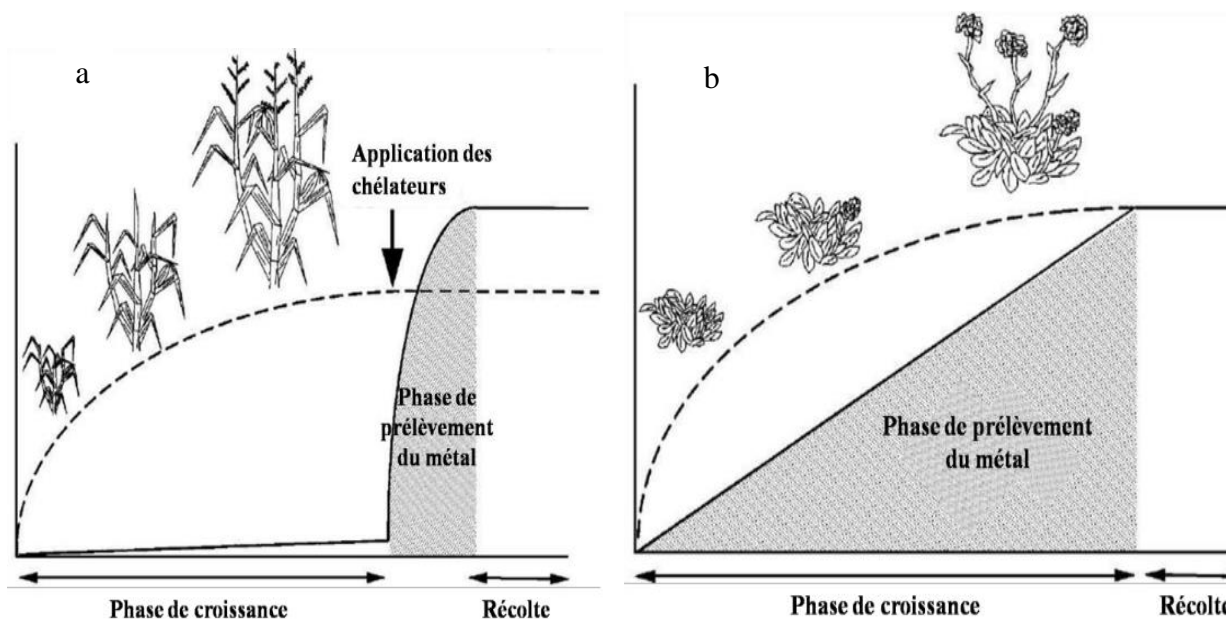


Figure 7. Schéma représentant la phytoextraction induite (a) et la phytoextraction continue (b)

II.3.5 Phytofiltration

Au cours de cette opération, le mouvement des substances toxiques dans les milieux aquatiques est minimisé par l'absorption ou l'adsorption de ces contaminants à l'aide de végétaux (Gupta et al., 2020). La nomenclature de cette stratégie diffères selon l'organes de la plante agissant dans l'opération et on parle alors de la caulofiltration, la rhizofiltration et la blastofiltration lorsque les pousses de plantes, les racines des plantes et les jeunes plants sont respectivement utilisées (Devi & Kumar, 2020; Raskin et al., 1997)(Figure 6).

II.4 Avantages et inconvénients de la phytoremédiation

La phytoremédiation est une méthode performante permettant d'éliminer efficacement les ETMs présents dans des sols et elle est considérée comme la technique la plus respectueuse de l'environnement ainsi que la moins coûteuse (Bernice et al. 2020; Lasat 2002; Sharma and Pandey 2014). Bien que son délai d'action soit relativement plus lent, elle représente tout de même un outil précieux pour le développement des aspects écologiques et esthétiques qui se répercute positivement sur la vie socio-économique (Erakhrumen, 2007).

Ainsi, comme toute technique ayant trait à la dépollution des sols, la phytoremédiation a également présenté divers avantages et inconvénients (Tableau 4) dont il faut

impérativement prendre en compte quand on envisage de la mettre en œuvre (Ahmadpour et al., 2012; Clemens, 2001; Ghosh & Singh, 2005; Hazrat et al., 2013; Koptsik, 2014; Mahar et al., 2016; Mukhopadhyay & Maiti, 2010).

Tableau 3. Quelques résultats des techniques de phytoremédiation

Techniques	Résultats	Références
Phytodégradation	L'humique acide a pourrait agir comme un agent favorisant la phytodégradation des hydrocarbures pétroliers dans les sols contaminés par du carburant diesel et des métaux lourds.	(Park et al., 2011)
Phytovolatilisation	Les résultats suggèrent que <i>Pteris vittata</i> volatilise efficacement As; il a éliminé un rapport maximum de 90% de l'absorption totale d'As des sols contaminés par l'As en serre, où l'environnement était similaire aux régions subtropicales.	(Sakakibara et al., 2007)
Phytoextraction	La phytoextraction est une technologie de remédiation idéale pour les sols contaminés par le Cd car elle permet d'éliminer les métaux lourds du sol sans entraîner une pollution secondaire	(Xuanzhen et al., 2022)
Phytostabilisation	Les plantes indigènes ne pourraient pas être une espèce candidate appropriée pour la phytoextraction mais pourraient être bien adaptées à la phytostabilisation des sites contaminés par des métaux.	(Midhat et al., 2019)
Phytofiltration	Cette méthode peut être utilisée pour l'extraction de Cd, Cr, Cu et Zn. Il existe des rapports pour plusieurs plantes ayant un potentiel de phytofiltration du Cd telles que <i>Limnicharis flava</i> (Abhilash et al., 2009) , <i>Arunda donax</i> (Dürešová et al., 2014). De plus, la liste des plantes susceptibles d'être utilisées dans la phytofiltration est donnée dans (Subašić et al., 2022)	(Subašić et al., 2022)

Tableau 4. Avantages et inconvénients de la phytoremédiation
(Laghlimi et al., 2015)

Avantages	Inconvénient
<ul style="list-style-type: none"> - Faibles coûts d'investissement et d'exploitation; - Le recyclage des métaux offre d'autres avantages économiques. 	<ul style="list-style-type: none"> - Plus lent par rapport aux autres techniques et dépendants de la saison; - La plupart des hyperaccumulateurs poussent lentement
Performances	
<ul style="list-style-type: none"> - Solution de traitement permanent; - Capable de remédier la fraction biodisponible de contaminants; - Capable de minéraliser les matières organiques; - Le potentiel de traiter les sites pollués par plus d'un type de polluant; - Personnel hautement spécialisé non requis; - Peut être utilisé pour les sites actifs ou abandonnés. 	<ul style="list-style-type: none"> - Incapable d'une réduction de 100%; - Une concentration élevée de contaminants peut être toxique pour les plantes; - La phytoremédiation des sols ne s'applique qu'aux sols de surface; - Limité aux sites à faibles concentrations de contaminants; - Nécessite une stratégie technique, des concepteurs de projets experts avec une expérience de terrain qui choisissent les espèces et variétés appropriés pour des métaux et des régions particuliers
Applications	
<ul style="list-style-type: none"> - L'application in situ évite l'excavation et le transport de milieux pollués; - Relativement facile à mettre en œuvre 	<ul style="list-style-type: none"> - La présence de plusieurs types de métaux lourds et de contaminants organiques peut poser un défi; - Les conditions climatiques sont un facteur limitant
Impact sur l'environnement et la population	
<ul style="list-style-type: none"> - Respectueux de l'environnement - Réduire le risque de propagation de la contamination; - Éliminer les déchets secondaires atmosphériques ou aquatiques; - Acceptation du public pour des raisons esthétiques. 	<ul style="list-style-type: none"> - Les métaux peuvent être lavés par la pluie et renvoyés dans le sol du fait de la décomposition de la biomasse végétale; - L'utilisation d'espèces envahissantes non indigènes peut affecter la biodiversité; - Risque de contamination de la chaîne alimentaire en cas de mauvaise gestion et de manque de soins appropriés.

II.5 Stratégies contribuant à améliorer la phytoremédiation assistée

En général, la technique de phytoremédiation dépend essentiellement de la capacité et de l'efficacité de la plante à accumuler les métaux et à les solubiliser dans le sol. Afin d'améliorer les capacités d'absorption des plantes, les chercheurs ont, en effet, employé des réactifs complexant, ou chélatants, surtout pour la phytoextraction comme stratégies accompagnant la technique de la phytoremédiation. Deux types de chélatants sont utilisés; i) naturels (les acides citrique, oxalique, ...etc.) ; ii) synthétiques (EDTA, DTPA, NTA ...etc.) ; ces derniers en plus de leur pouvoir complexant peuvent malheureusement présenter des risques majeurs surtout dans les milieux naturels. Komárek et al., (2007) ont évalué les risques associés à la phytoextraction du Pb et Cu par le peuplier en présence de l'éthylène diamine tétra acétique (EDTA). Ils ont donc montré que l'application de l'EDTA maintient ces deux métaux dans le sol sous des formes fortement mobiles pendant deux années. Ce qui peut provoquer un lessivage de ces métaux dans la nappe ou leur absorption par les plantes ou autres êtres vivants.

Certains chercheurs ont utilisé la modification génétique des plantes afin d'améliorer leurs performances de phytoremédiation. Huang et al., (1997) ont montré que le mutant de pois a accumulé 20% plus de Pb dans les pousses que le type sauvage. Ces résultats suggèrent que la translocation du Pb des racines aux pousses peut être contrôlée génétiquement (Huang et al., 1997).

L'aspect indirect de la phytoremédiation est focalisé sur l'utilisation des micro-organismes comme un médiateur entre la plante et les éléments absorbés, et dans ce sens Stomp *et al.*, (1994) ont affirmé que les micro-organismes de la rhizosphère élargissent considérablement la surface racinaire et la capacité d'absorption. Ils régulent aussi partiellement les capacités métaboliques des racines et peuvent modifier la plupart des paramètres physiques et chimiques mesurables du sol (Stomp et al., 1994).

III Pin d'Alep

III.1 Généralités

"Le pin d'Alep", "le pin blanc", "le pin de Jérusalem" ... ce sont des nomenclatures communes et vernaculaires de l'espèce *Pinus halepensis* qui appartient au genre *Pinus* comprenant presque 111 espèces (Stevens & Enquist, 1997). En 1755, Duhamel a décrit le pin d'Alep et lui a donné le nom de *Pinus hierosolimitana* (Nahal, 1962). En 1768, Miller l'a

redécrit et l'a nommé *Pinus halepensis* (Nahal, 1962) même s'il n'existe pas à l'état naturel dans la région d'Alep en Syrie, autrement c'est un pin voisin qui est endémique dans cette région appelé *Pinus brutia*. Actuellement tous les botanistes utilisent la nomenclature *Pinus halepensis* comme le nom de l'espèce pin d'Alep. En 1984, Nahal a présenté la différence entre *Pinus halepensis* et *Pinus brutia*, en se basant sur leurs critères morphologiques et anatomiques (Quézel & Barbero, 1992).

En raison de sa rusticité, sa plasticité écologique, son intérêt économique et la maîtrise de la production de plants en pépinières forestières *Pinus halepensis* Mill est classé parmi les espèces les plus utilisées dans l'opération de reboisement (Boulli et al., 2001). En outre, la surface naturelle occupée par cette espèce devient de plus en plus restreinte sous l'effet des exploitations humaines excessives et des incendies, comme c'est le cas au Maroc au niveau de la zone Rifaine centro-occidentale qui a souffert pendant 30 ans d'un recul du couvert forestier de 40 à 60 %, avec une déforestation atteignant les 2000 ha/an (Grovel, 1996).

Le pin d'Alep est le résineux le plus connu et le plus répandu dans le bassin Méditerranéen qui couvre environ 3,5 millions d'hectares (Quézel & Barbero, 1992). Au Maroc, il couvre près de 60.000 ha, répartis sur les chaînes montagneuses du pays depuis le niveau de la mer jusqu'à environ 2.000 m. Depuis les années 60, le département des eaux et forêts a mis en œuvre des programmes nationaux de reboisement dans lesquels le pin d'Alep figure dans presque 60% du total des résineux reboisés (Wahid et al., 2010).

III.2 Description de l'espèce *Pinus halepensis* Mill

III.2.1 Classification

Les conifères sont regroupés en un seul ordre, généralement divisé en sept familles, en effet la famille des Pinaceae est généralement divisée en dix genres (**Figure 8**). La classification du genre *Pinus* est assez complexe à cause de l'aptitude de certaines espèces à s'hybrider entre elles et cette classification a été soumise à de nombreux changements selon les caractères pris en compte. Il est encore difficile d'avoir une vue d'ensemble précise de la phylogénie du genre *Pinus*. La classification de Mirov (1967) est remarquable du fait qu'elle fut la première à prendre en compte plusieurs approches (morphologique, géographique, génétique, physiologique, chimique et paléobotanique) et qu'elle explore la quasi-totalité des espèces de pin (sa classification tient compte de 105 espèces au total)(Chagne, 2004) (**Tableau 5**).

Tableau 5. Classification de l'espèce *Pinus halepensis*

Règne	Plantae
Embranchement	Pinophyta
Sous-Embranchement	Pinophytina
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Pinaceae
Sous-famille	Pinoideae
Genre	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Pinus halepensis</i>

III.2.2 Vision paléontologique sur le Pin fossile

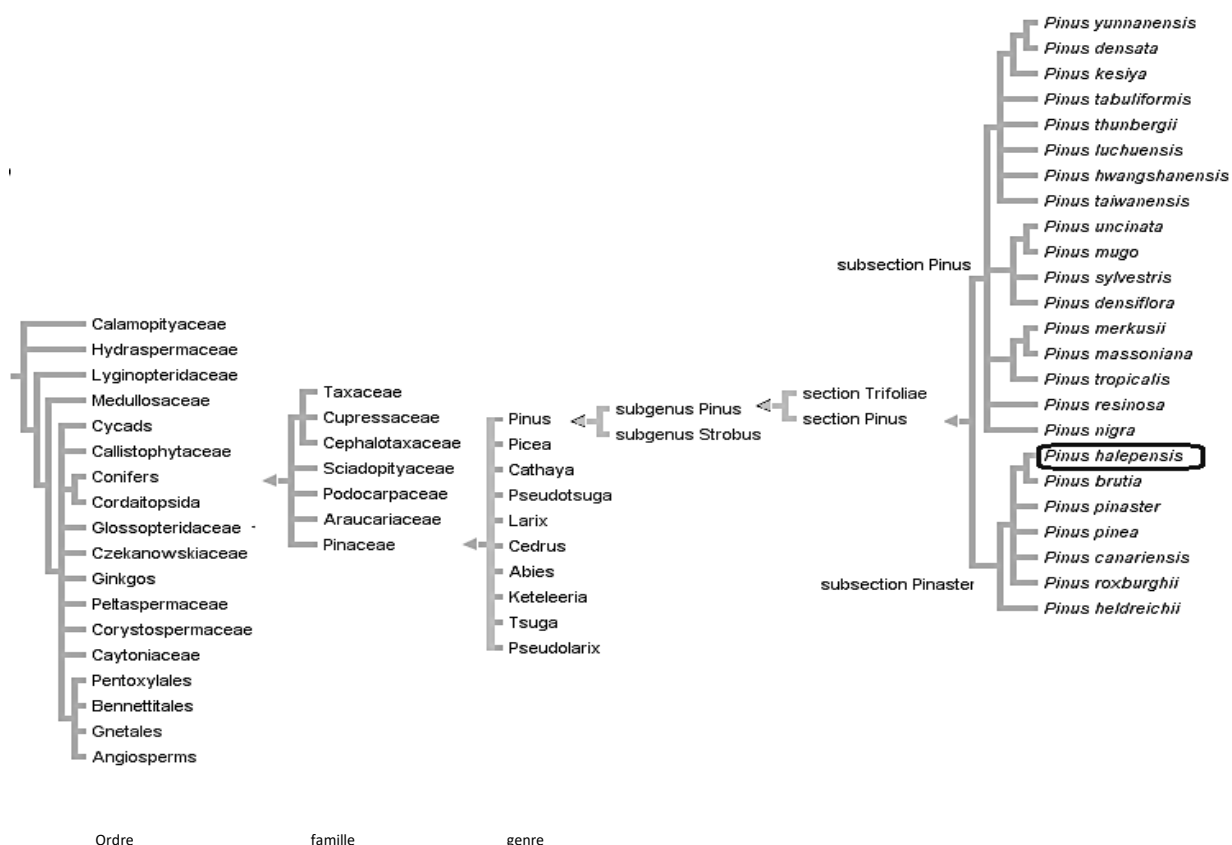


Figure 8. Phylogénie simplifiée des conifères situant les différents niveaux de classification utilisés pour classer les espèces de pins
(source: <http://tolweb.org/Eukaryotes/3>)

Les études paléontologiques qui ont été réalisées dans diverses régions ont abouti à la découverte des fossiles de pin d'Alep dans des dépôts des époques Pliocène (**Figure 9**) à la Valentine en France et Pléistocène à Saint-Martial, au Gard en France et sur la côte

méditerranéenne en Palestine. Dans les paléosols sahariens du Hoggar en Afrique du nord, Pons & Quézel (1957) l'ont reconnu par son pollen (Nahal, 1962). La

Figure 10 représente des cônes de conifères découverts dans la carrière Steinhardt de Bad Doberheim, en Allemagne, (Oligocène).

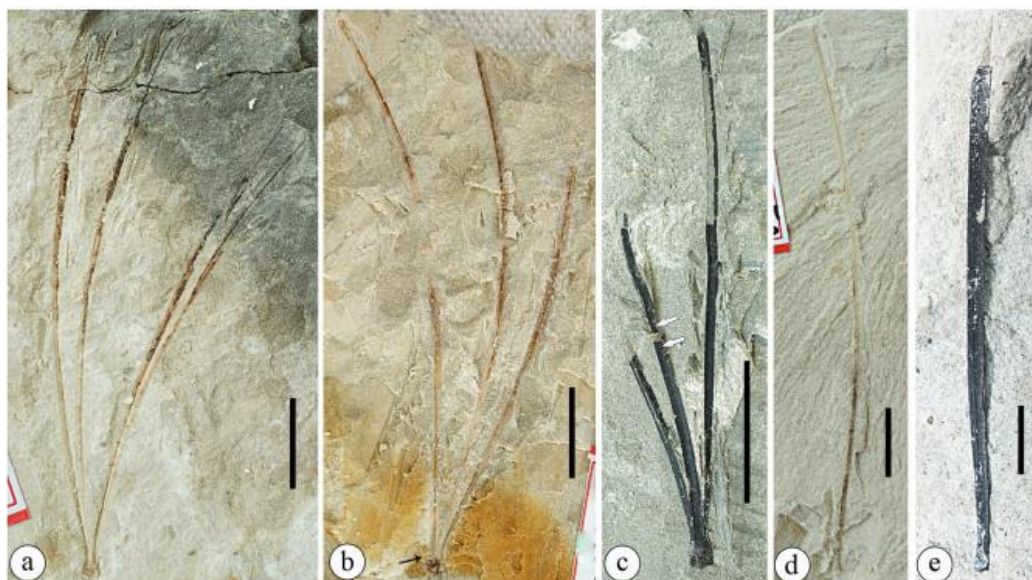


Figure 9. Aiguilles fossiles de *Pinus plioarmandii* sp. nov. du Pliocène de Yunnan, Chine . (a)–(e), échelle (— = 1 cm) (An et al., 2018)

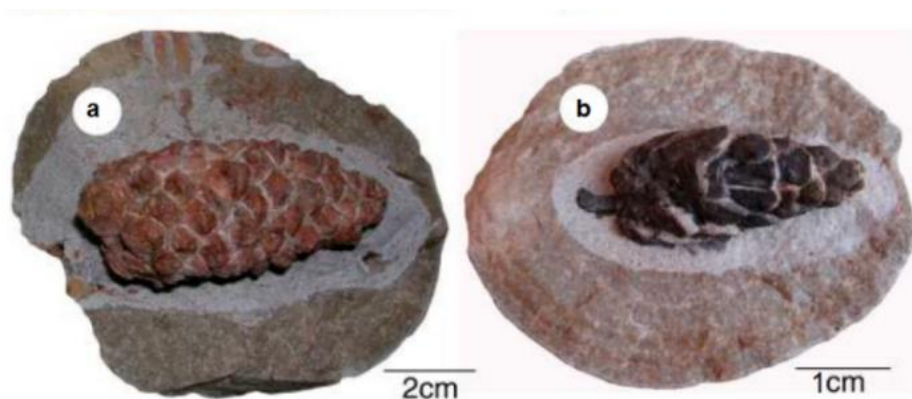


Figure 10. Cône de conifère de l'Oligocène (Mustoe, 2018)

III.2.3 Aire naturelle du pin d'Alep

L'aire naturelle du pin d'Alep qui existe en Afrique du nord est d'origine de la septentrionale européenne (**Figure 11**). En effet, l'impact de la glaciation de cette région a poussé cette couverture végétale vers le sud vers le bassin méditerranéen. Grâce au climat

humide, le pin d'Alep a pu se répandre sur une vaste région, mais son aire devient de plus en plus restreint et très dispersé à cause de l'influence du climat de l'Océan Atlantique et aussi de l'action destructive de l'Homme (Bellefontaine & Raggabi, 1977; Nahal, 1962; Quezel & Bonin, 1980). Actuellement, *Pinus halepensis* occupe la zone la plus méridionale, il est très répandu dans la partie occidentale du bassin méditerranéen (allant de 45° à 31° N), y compris en Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye), au sud de la France, en Italie, Espagne, Grèce et Malte. Il est également présent dans les zones côtières de la Croatie et de l'Albanie. On trouve des populations naturelles et artificielles en Turquie, en Jordanie, Palestine, Liban et Syrie.

Au Maroc, cette espèce portant les noms vernaculaires : Snober, Tarda a une aire réduite (**Figure 11**) et très dispersée en raison de l'influence de l'Océan Atlantique et de l'action destructive de l'Homme. On le rencontre dans le Rif (Nador, Aknoul), au Maroc oriental (Debdou, Taforalt), dans le Moyen Atlas (régions de Taza, d'El Hammam, vallées d'Ahansal et d'Assil Melloul), et dans le Haut Atlas où il se présente sous forme de peuplements dans des stations très éparses (bassin de la Tessaout) (Boulli et al., 2001).

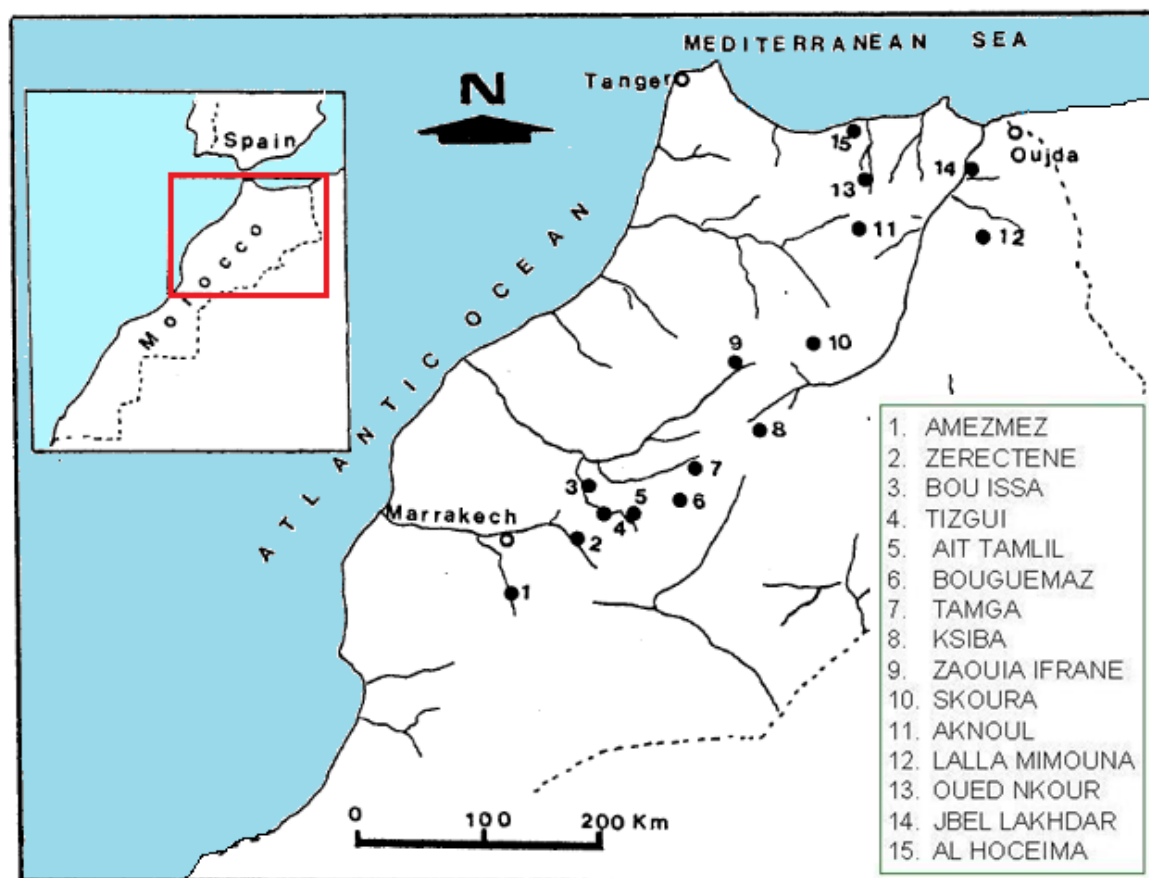


Figure 11. Carte de la répartition des populations du pin d'Alep au Maroc
(Boulli et al., 2001)

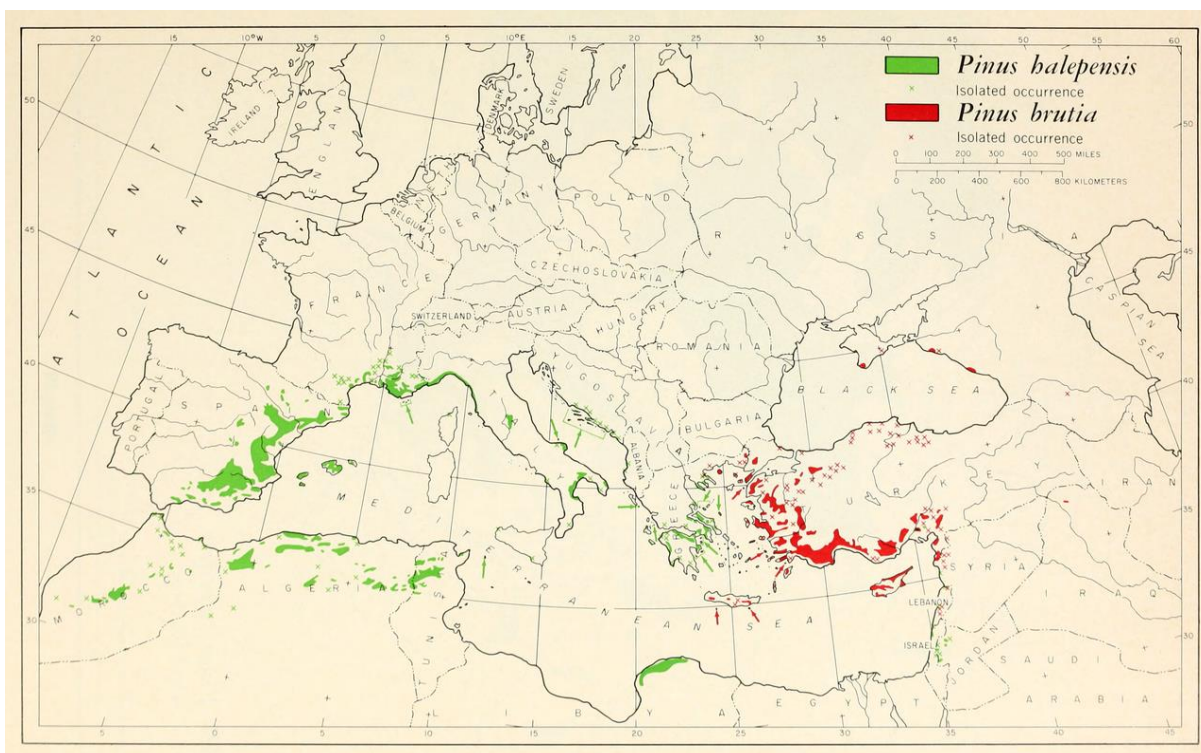


Figure 12. Aires de répartition de *Pinus halepensis* et *Pinus brutia*
(Critchfield & Little, 1966)

III.2.4 Ecologie du pin d'Alep

III.2.4.1 Conditions climatiques

Les pins du groupe "halepensis" s'épanouissent principalement aux étages thermo et méso-méditerranéens (*Figure 12*), essentiellement au contour Méditerranéen entre 0 et 300-600 m en Méditerranée septentrionale, et entre 0 et 1200-1400 m en Méditerranée méridionale. Ils peuvent se retrouver aussi dans les hautes altitudes notamment le Haut Atlas central 2600 m (*Figure 13*) et près de 2000 m dans l'Aurès en Algérie (Quézel & Barbero, 1992).

III.2.4.2 Conditions édaphiques

Sur le plan édaphique l'espèce *Pinus halepensis* se développe sur des substrats marneux et calcaro-marneux calcaire compacts, des schistes et des micaschistes (Seigue, 1985). Le pin d'Alep peut rarement se retrouver sur les granites et les gneiss. Signalons également que cet arbre ne tolère pas les bas-fonds limoneux ou limono-argileux (Quézel & Barbero, 1992).

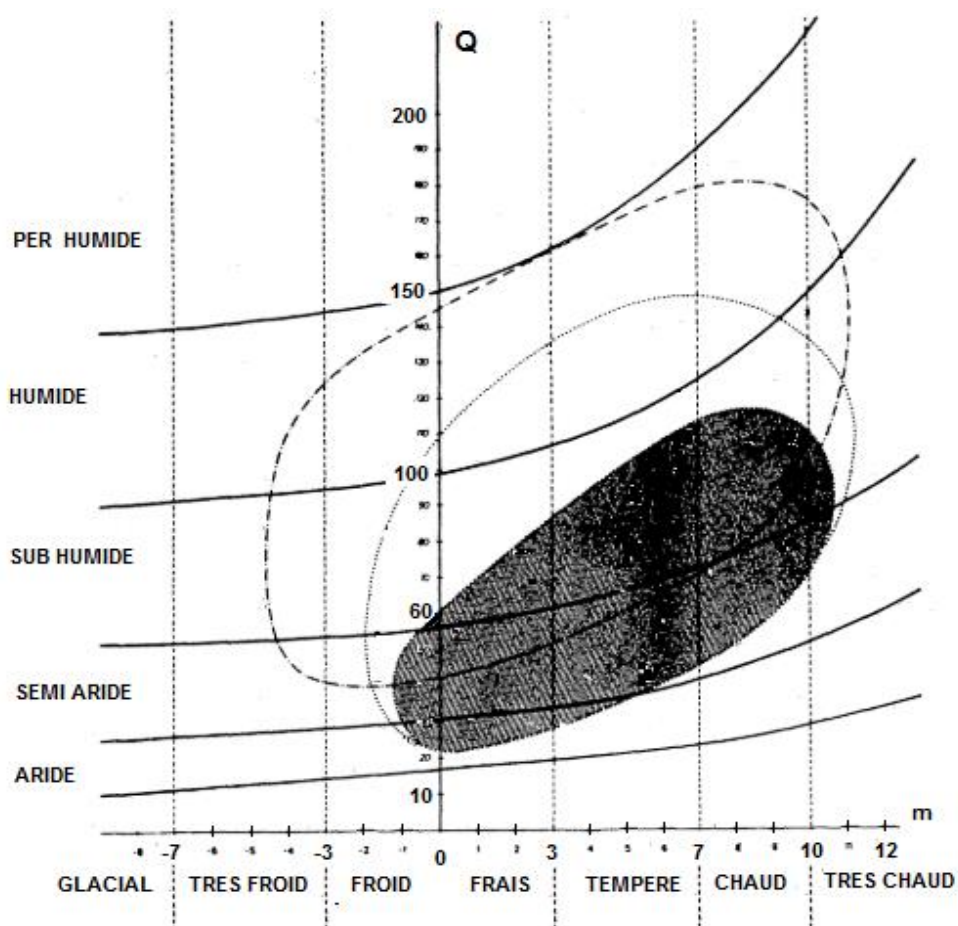


Figure 13. Aire de projection de *Pinus halepensis* (...) et de *Pinus brutia* (-.-.-) (sur le climagramme d'Emberger)

$$Q = \frac{P \times 1000}{\left(\frac{M + m}{2}\right) M - m} \quad \text{Éq 1}$$

- Q : Quotient pluviométrique d'Emberger
- M : moyenne des maxima (températures maximales journalières) du mois le plus chaud, en degrés Celsius
- m : moyenne des minima (températures minimales journalières) du mois le plus frais, en degrés Celsius
- P : cumul pluviométrique annuel, en millimètres (Nahal, 1962)

La zone en grisé correspond à l'aire où *Pinus halepensis* est généralement climacique (Quezel, 1986).

III.2.5 Biologie du pin d'Alep

Le pin d'Alep est une plante qui appartient au groupe des conifères résineux. Sa taille moyenne peut atteindre 25 m de hauteur (**Figure 14**) avec un tronc couramment tortueux et branchu (**Figure 15**); rhytidome au début et écailleux lisse, gris argenté ensuite gerçure à écailles sombres d'une couleur brun-foncé à l'âge adulte. Les aiguilles de couleur vert-jaunâtre sont fines et flexibles, fasciculées par deux, de 0,8 à 1 mm d'épaisseur et de 6 à 12 cm

de longueur. Les cônes sont de forme conique-ovoïde de 8 à 12 cm de longueur, de couleur rouge-brun luisant, à pédoncule très épais constitués d'écaillés cachées au-dessous des graines ailées persistantes qui permettent une dissémination rapide, éloignée et efficace (*Figure 16*) (Benabid, 2000; Khouja, 2020; Kirpichtchikova, 2009).



Figure 14. Image représentant la taille estimative d'un pin Alep de la forêt Guedmioua par rapport à une taille humaine moyenne.



Figure 15. Photo du tronc du pin Alep de la forêt Guedmioua

Le pin d'Alep est une espèce diploïde (24 chromosomes/2n), et monoïque, les organes sexuels mâles et femelles sont distinctement séparés dans la structure de l'arbre (Mirko, 1991). Les inflorescences femelles sont sous forme de petits cônes pédonculés en position terminale sur les pousses avec une couleur rose violacé (*Figure 16*). Les inflorescences mâles (chatons) sont regroupées en un pseudo-verticille souvent sur des rameaux inférieurs, oblongs, peu serrés, de couleur jaune avec une teinte orangée (*Figure 16*).

L'enracinement du pin d'Alep est de forme pivotant avec de fortes racines latérales. Il est superficiel et on voit souvent apparaître les racines à la surface du sol. Les racines sont robustes et quand les conditions sont favorables elles peuvent s'enfoncer profondément dans le sol (*Figure 16*). Le cycle de fructification de pin d'Alep est détaillé par (Khouja, 2020).

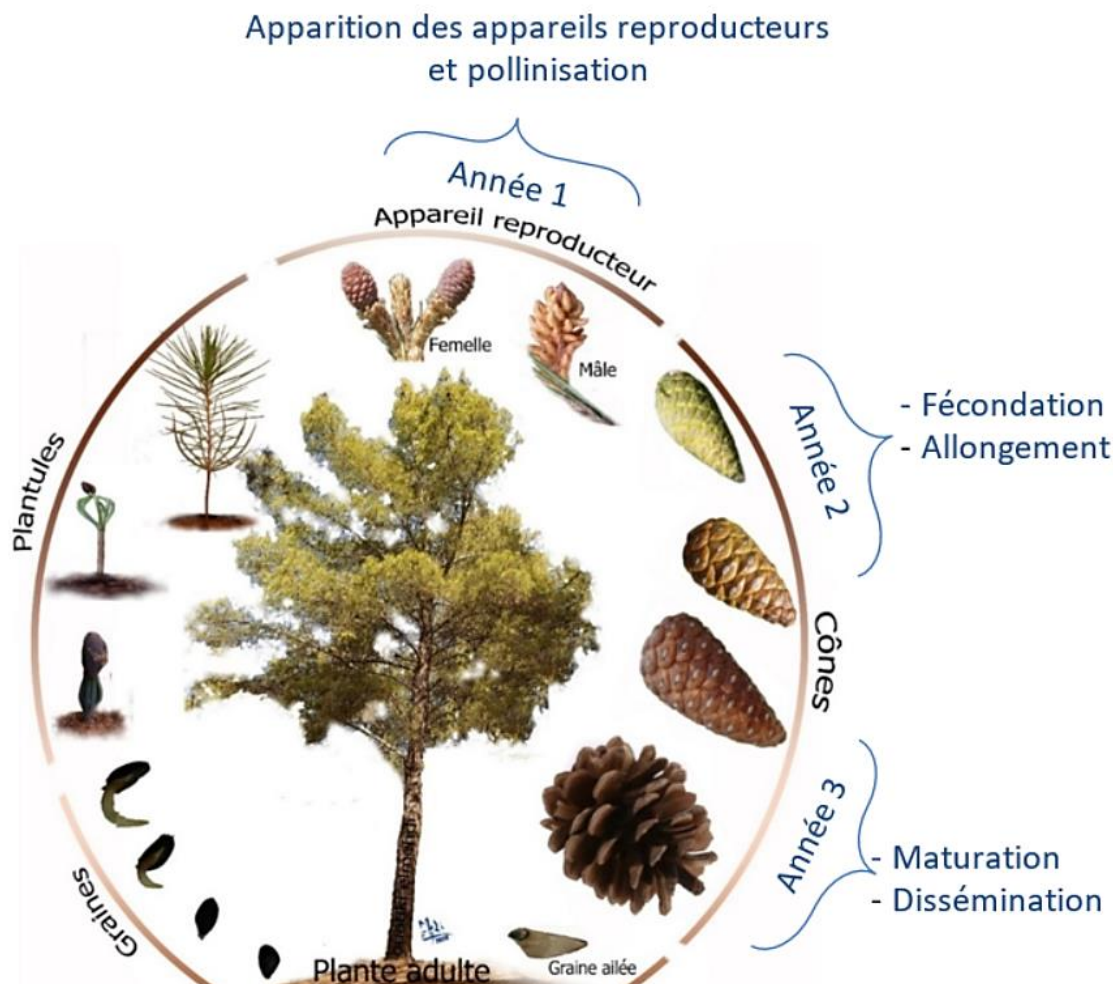


Figure 16. Cycle d'évolution et de fructification du pin d'Alep



Figure 17. Photos des racines géantes du pin d'Alep dans la forêt Guedmioua dans la région d'Amizmiz

III.2.6 Productivité du pin d'Alep

L'Homme a exploité les plantes dans la nature en fonction de leurs caractéristiques spécifiques. Au fil des ans, le pin d'Alep a été utilisé différemment, la partie la plus consommée est en fait le "bois" de la tige dont la qualité est ordinaire. En raison de la présence des nœuds ainsi que de poches de résine, les champs d'utilisation et de mise en œuvre se trouvent étroits, notamment dans les domaines de la construction et de la menuiserie. Le pin d'Alep peut, cependant, fournir du bois de mine, des poteaux et des perches. Le pin d'Alep est une plante assez riche en canaux résinifères qui portent de la résine (essence de térébenthine) qu'on peut extraire par la technique de gemmage. Cette résine est utilisée dans le domaine cosmétique, médical, alimentaire, peinture et aussi comme parfumes (Prévosto, 2013; Satil et al., 2011). Les pêcheurs ont utilisé son écorce pilée et bouillie, dont les tanins renforçaient et teignaient les filets. Dans le domaine culinaire les tunisiens ont exploité les graines du pin d'Alep pour la préparation communément nommé « Assidat Zgougou »(Khouja, 2020).

III.2.7 Végétation associée au pin d'Alep

La diversité floristique de la couverture végétale peut permettre aux plantes de vivre ensemble selon les différents paramètres environnementaux qui leur confèrent d'être associés même dans des régions différentes. Cependant, les groupements végétaux qui accompagnent le pin d'Alep sont différents d'un bioclimat à un autre. Le **Tableau 6** présente les plantes associées du pin d'Alep par ambiance bioclimatique (Khouja, 2020).

Tableau 6. Plantes associées du pin d'Alep par ambiance bioclimatique.

(Marion & Poupon, 1974)

Ambiance bioclimatique	Plantes associées
Humide	<i>Arbutus unedo</i>
Subhumide	<i>Thymus capitatus</i>
Semi-aride supérieur à hivers doux et tempéré	<i>Quercus ilex, Rosmarinus officinalis</i>
Semi-aride supérieur à hivers frais	<i>Rosmarinus officinalis, Erica multiflora</i>
Semi-aride inférieur à hivers frais	<i>Retama sphaerocarpa</i>
Aride supérieur à hivers frais	<i>Thymelia tartonraira</i>

III.2.8 Espèces de champignons ectomycorhiziens associées au Pin d'Alep au Maroc

Les micro-organismes présents dans l'environnement de la plante surtout dans la partie rhizosphérique du sol entrent en interaction avec les racines des plantes. Parmi ces êtres microscopiques on trouve les bactéries, les champignons et les protozoaires. En effet, notre étude est basée essentiellement sur la relation champignons/plantes. Autrement cette interaction a un effet bénéfique/néfaste car elle peut jouer le rôle soit d'un ami ou soit d'un ennemi : certains champignons peuvent engendrer des maladies qui déciment les forêts et d'autres participent à des relations symbiotiques avec les plantes. Au Maroc, Nounsi *et al.* (2014) ont présenté un inventaire de 285 espèces de CEMs parmi lesquels certains peuvent s'associer en symbiose avec les pins (*Scleroderma meridionale*, *Tuber oligospermum*, *Amanita gemmata*, *Suillus collinitus* ...).

III.2.9 Utilité du pin d'Alep dans le domaine de la recherche

L'espèce *Pinus halepensis* représente un outil d'étude intéressant dans le domaine de recherche scientifique. En outre, elle est considérée parmi les espèces végétales qui peuvent mieux s'adapter au stress hydrique (Khouja, 2020), et c'est pour cette raison qu'il est utilisé dans la majorité des programmes de reboisement dans les régions surtout méditerranéennes (Roldan and Albaladejo, 1994). En plus, d'autres caractères ont été exploités par les chercheurs comme Pasqualini *et al.* (2003) qui ont utilisé les composés phénoliques simples et complexes du *Pinus halepensis* comme indicateurs biologiques de la qualité de l'air.

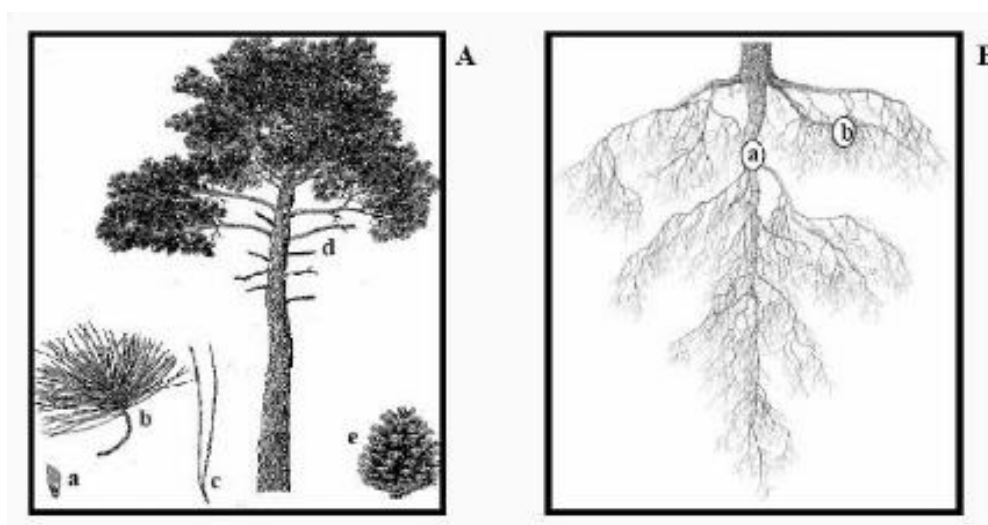


Figure 18. Description du genre pinus.
 A): Parties aériennes. a : graine ; b : aiguilles ; c : fascicule ; d : tronc et branches ; e : cône. B) : système racinaire. a : racine plongeante ; b : racine traçante
 . (D'après (Farjon, 1984))

En effet, grâce à sa taille géante (*Figure 18*) et la forme pivotante de son système racinaire le pin d'Alep permet une meilleure rétention de la structure du sol et une accumulation des métaux. Pour cela certains chercheurs l'ont utilisé dans des programmes de phytostabilisation des rejets miniers. Rodríguez Martín *et al.*, (2018) ont démontré que *Pinus halepensis* planté dans des sites pollués accumule les éléments du plomb et du cadmium plus que celui planté dans les sites non pollués.

IV Mycorhization

IV.1 Historique

Les mycorhizes existent depuis plus de 450 millions d'années, lorsque les plantes ont colonisé la terre (Bâ et al., 2011). Les recherches paléontologiques effectuées, donnent une idée sur l'ancienneté de cette relation symbiotique, la *Figure 20* représente des fossiles qui ressemblent aux arbuscules d'endomycorhizes (Taylor et al., 1995). Par ailleurs, Beimforde (2011) ont présenté des photomicrographies optiques des systèmes ectomycorhiziens d'*Eomelanomyces cenococoides* de l'ambre de l'Éocène de l'Inde (*Figure 19*) et (*Figure 21*).

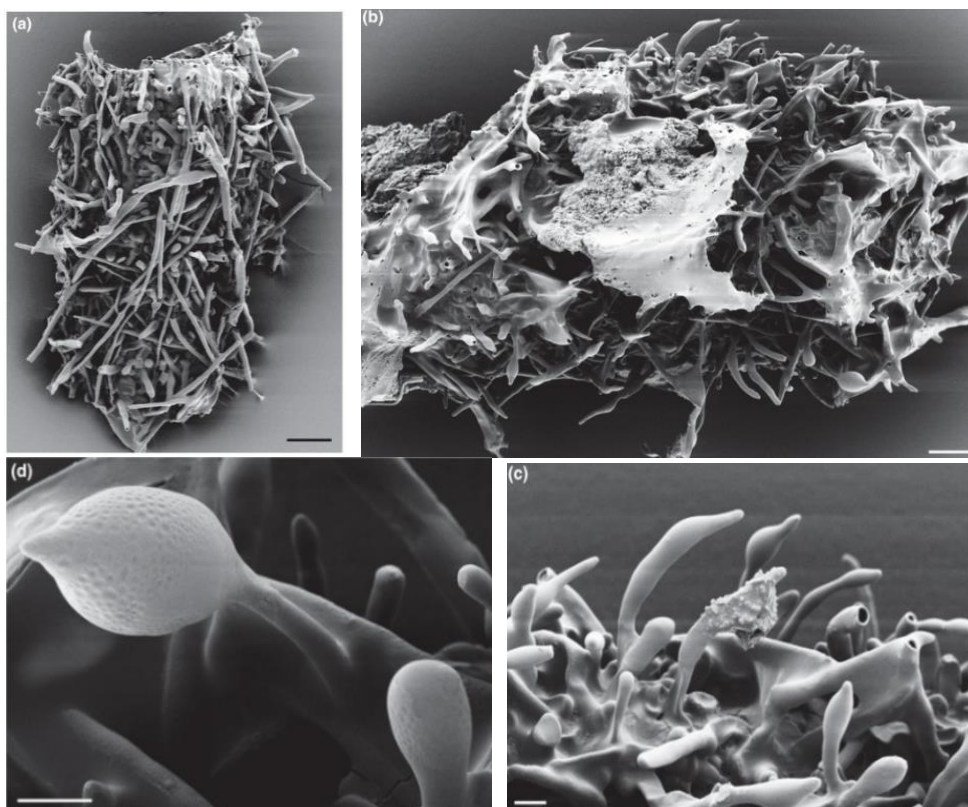


Figure 19. Micrographies électroniques à balayage des hyphes et les apices des ectomycorhiziens dans l'ambre de l'Éocène de l'Inde. (—) 20 μm (a,b); 5 μm (c–d) (Beimforde et al., 2011)

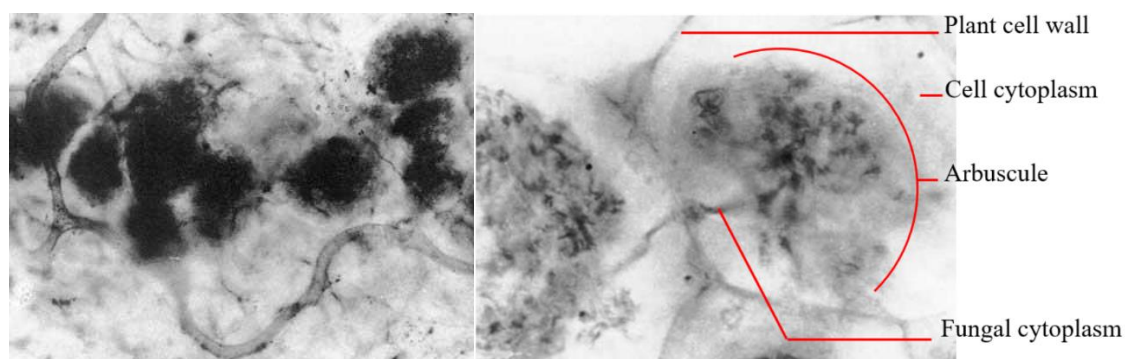


Figure 20. Fossiles représentant des structures qui ressemblent aux arbuscules des champignons endomycorhize (Taylor et al., 1995)

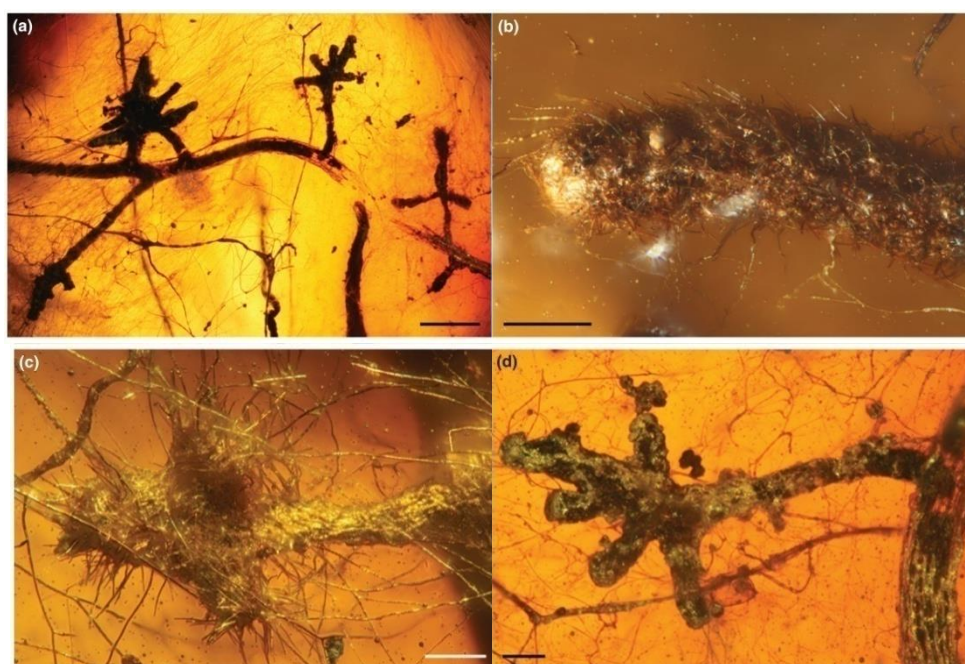


Figure 21. Photomicrographies au microscope optique des hyphes et des apices ectomycorhiziens dans l'ambre de l'Éocène de l'Inde. (—) 500 µm (a); 100 µm (b,c et d) (Beimforde et al., 2011)

La symbiose la plus répandue dans le monde végétal est le mycorhize, formée entre les racines et des champignons microscopiques du sol, les Gloméromycètes. Cette symbiose a été décrite pour la première fois en 1885 par le botaniste allemand Albert Frank (1839-1900). Il a été chargé par le Ministre de l'agriculture de la Prusse pour enquêter sur les moyens de cultiver les truffes. Au cours de ses recherches, Albert Frank a constaté que presque tous les arbres forestiers qu'il avait examinés avaient un manteau fongique sur leurs racines. Il s'est avéré par la suite que ce complexe fongique est une association symbiotique entre les champignons et les racines des plantes nommée mycorhize.

IV.2 Définition du mycorhize

Le mot mycorhize est d'origine grecque (mukês est signifié champignons et rhiza signifie racine) c'est un complexe symbiotique créé d'une relation mutuellement bénéfique entre les racines de presque 90% des plantes terrestres (Smith & Read, 1997) et certains champignons mycorhiziens (CM) (Kaufman, 2020). Dans la nature on trouve sept types de mycorhizes dont deux sont les plus répandues, elles se différencient par leurs aspects morphologiques des hyphes et leurs interactions avec la plante hôte colonisée et selon les caractères anatomiques de l'association (Nouaim & Chaussod, 1996). Les hyphes fongiques qui ne pénètrent pas à l'intérieure des cellules des racines sont appelés champignons ectomycorhiziens, tandis que les hyphes de champignons qui traversent la paroi cellulaire et envahissent la membrane cellulaire sont appelés champignons endomycorhiziens (Huey et al., 2020). Les cinq autres types sont ectendomycorhize, arbutoïdes, monotropoïdes et orchidoïdes, et éricoïdes (*Figure 22*).

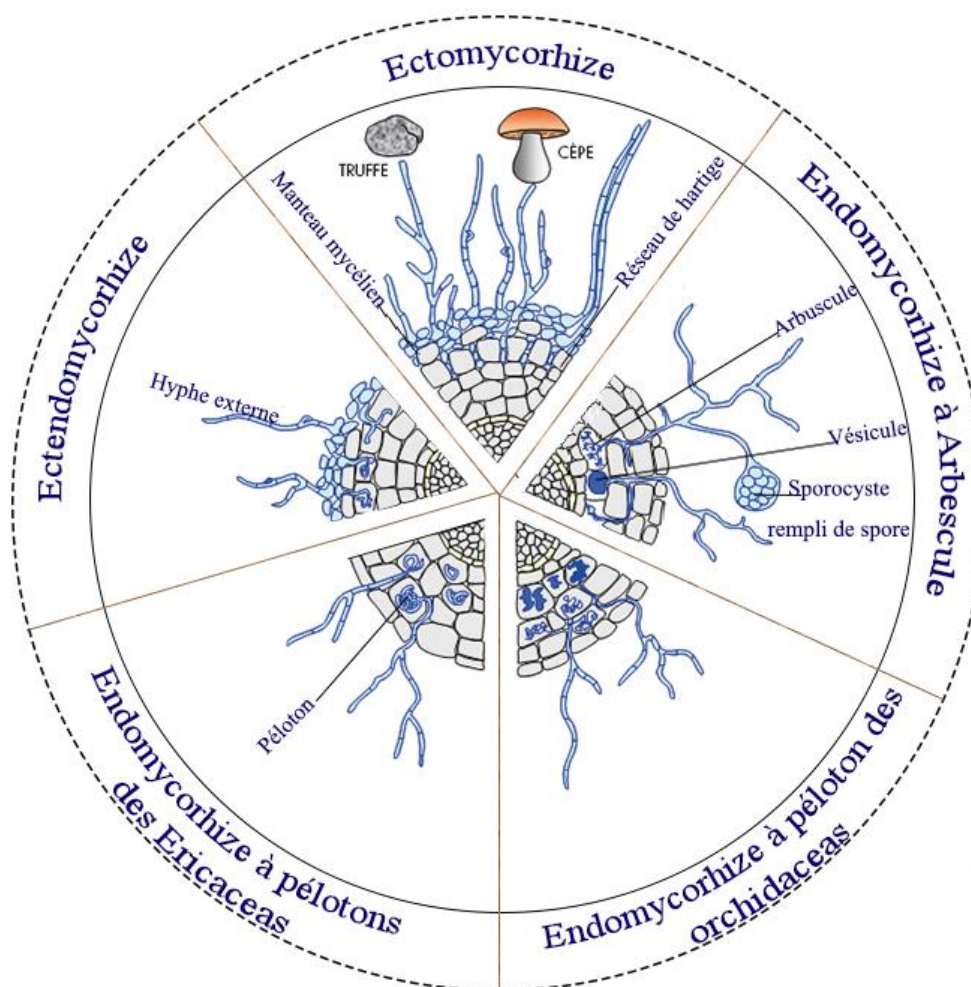


Figure 22. Différents types d'associations mycorhiziennes (Selosse & Tacon, 1998)

IV.2.1 Associations ectomycorhiziennes et endomycorhiziennes

IV.2.1.1 Ectomycorhizes

Le contact mutuel entre les champignons et les plantes hôtes est accompli grâce aux mycéliums du champignon qui se développent de manière à ne pas s'infiltrer à l'intérieur des cellules vivantes des racines en formant une structure en trois parties (**Figure 23 - Figure 24**):

- i) Le manteau fongique : qui peut atteindre 40 μm d'épaisseur sur la partie externe de la racine, agit comme une barrière contre les agents pathogènes;
- ii) Le réseau de Hartig : où se déroulent les échanges symbiotiques est un ensemble d'hyphes qui se développe vers l'intérieur entre les cellules épidermiques et corticales de la racine (Smith & Read, 1997);
- iii) Les hyphes externes "le mycélium" : qui diffusent à l'extérieur de la racine, abrite les sporophores (**Figure 24**).

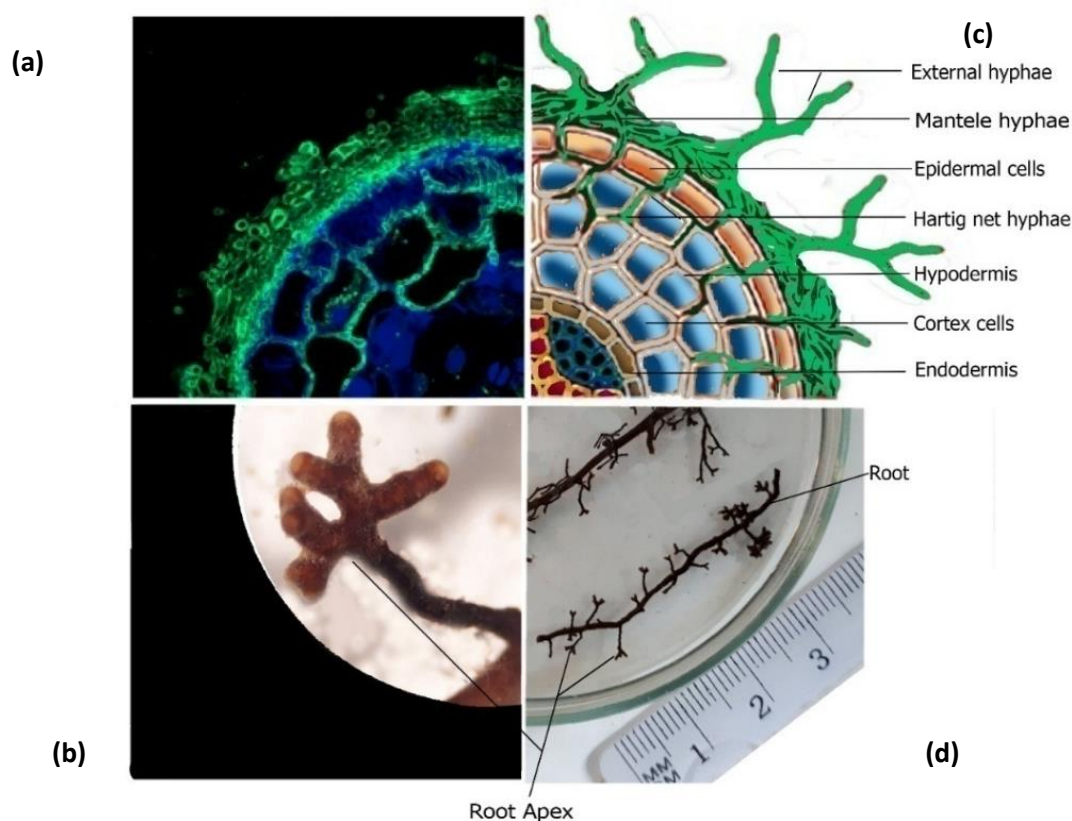


Figure 23. Racine de Pin colonisée par le champignon ectomycorhizien

(a) Coupe transversale d'une racine de Pin colonisée par le champignon ectomycorhizien *Cenococcum geophilum*. Le mycélium (coloré en vert) forme un manchon d'hyphes agrégés autour de la racine et colonise le parenchyme cortical de la racine en formant un réseau entre les cellules de l'hôte (colorées en bleu) (photo : Maira Pereira de Freitas, INRAE.) : <https://www.afas.fr/symbiose-et-cooperation-entre-les-arbres-et-les-champignons-pour-une-foret-durable/>. (b) Photo d'apex ectomycorhizien du *Pinus halepensis* colonisé par le champignon *Scleroderma* sous la loupe. (c) Schéma explicatif d'une coupe transversale d'une racine du pin d'Alep ectomycorhizée. (d) Photo des morceaux de racine du pin d'Alep ectomycorhizés à l'œil nu.

La plupart des CEMs sont les ascomycètes et généralement des basidiomycètes formant les carpophores sur les sols et certains d'entre eux sont comestibles. Les plantes-hôtes sont fréquemment du type résineux (*Pinaceae*,...)(Smith & Read, 1997).

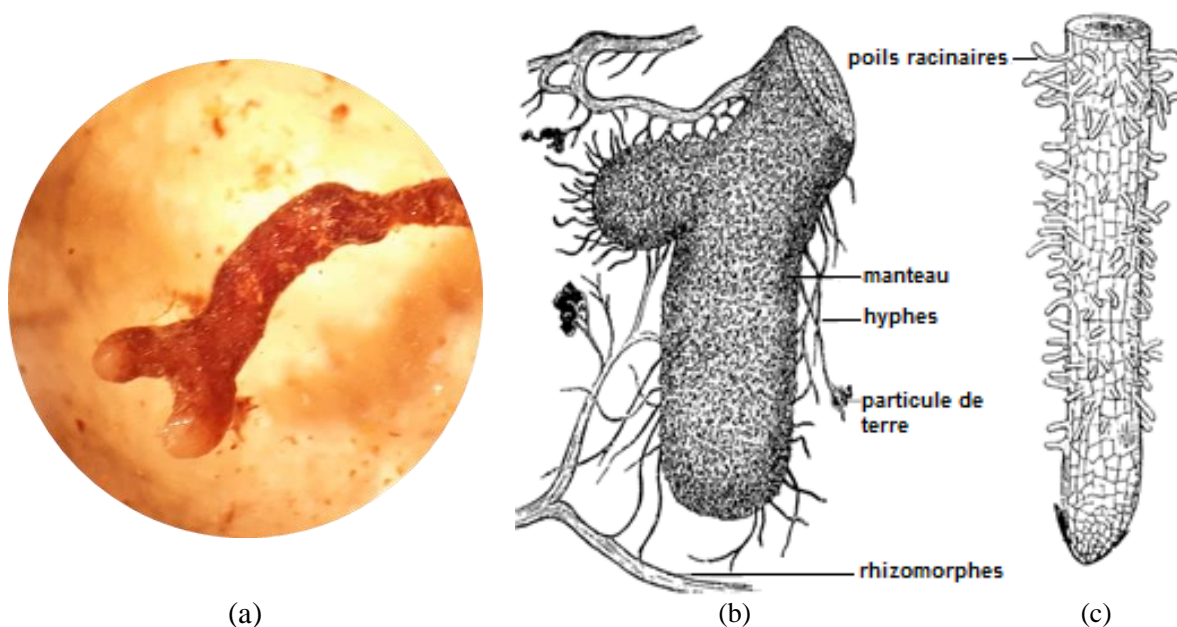


Figure 24. Photographie d'une racine ectomycorhizée du pin d'Alep sous la loupe(a). Représentation schématique d'une racine mycorhizée(b) et non-mycorhizée(c) de *Fagus sylvatica* (Fiore-donno, 2001)

IV.2.1.2 Endomycorhize

Les hyphes du champignon pénètrent à l'intérieur des cellules du cortex racinaire en repoussant leur plasmalemme sans le traverser, et c'est pour cela on ne peut pas les voir sans coloration. En se basant généralement sur la morphologie des extrémités des hyphes, on peut distinguer deux groupes des endomycorhizes: les mycorhizes à pelotons et les mycorhizes à arbuscules.

IV.2.1.2.1 Mycorhizes à peloton

Leur nom est déterminé selon l'aspect peloton de l'extrémité des hyphes des CM. Ces hyphes repoussent le plasmalemme des cellules corticales de la racine de plante-hôte y formant des pelotons. Ce groupe contient aussi d'autre type de mycorhizes :

- Les mycorhizes des Ericacées ou Ericoïdes qui représentent un type unique de mycorhizes confinées à plusieurs familles dans le grand ordre des angiospermes Ericales. Une caractéristique unifiant les plantes développant ce type de mycorhize est

la formation de racines latérales très spécialisées, les "racines des cheveux" (Peterson et al., 2004) ;

- Les mycorhizes des orchidées qui n'apparaissent qu'au sein de la famille des orchidacées, l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs (Peterson et al., 2004).

IV.2.1.2.2 Mycorhizes à arbuscules

Les mycorhizes arbusculaires (MA) initialement nommées mycorhizes vésiculaires-arbusculaires, constituent des associations symbiotiques mutualistes entre les racines de la plupart des plantes vasculaires et d'un petit groupe de champignons dans le nouveau phylum *Glomeromycota* (Schüßler et al., 2001). Plus de 80% des espèces végétales terrestres forment des associations symbiotiques avec les communautés MA, qui jouent un rôle clé dans la performance des plantes (Munkvold et al., 2004). Il existe deux principaux types de MA: le type Paris (*Figure 25(a)*) et le type Arum (*Figure 25(b)*) (Peterson et al., 2004; Smith & Read, 1997). Contrairement aux ectomycorhizes, les MA n'engendrent pas de changement morphologique évident du système racinaire et ne peuvent donc être observées qu'en utilisant diverses méthodes microscopiques. C'est le type le plus répandu notamment chez les plantes herbacées et beaucoup d'espèces ligneuses (Lahcen Ouahmane, 2007)

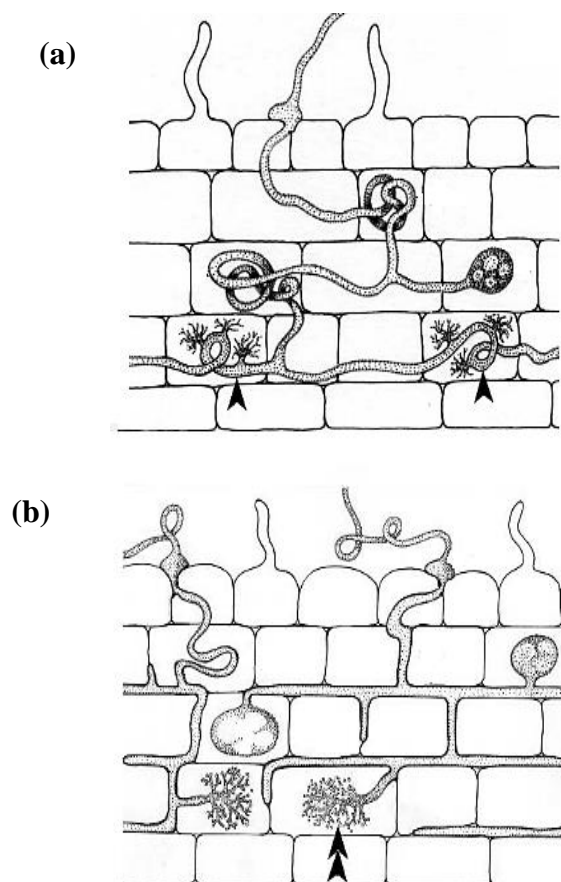


Figure 25. Types de MA: (a) le type Paris, (b) le type Arum

IV.3 Rôles des symbioses mycorhiziennes

Les plantes sont des êtres vivants immobiles (Greppin et al., 1986) fixés par leurs racines dans le sol, ce qui limite énormément les ressources en eau et en élément nutritifs dont les quantités varient selon les conditions bioclimatiques et le milieu de vie de la plante. Pour augmenter la surface d'échange, la plupart des végétaux ont formé des associations symbiotiques avec les microorganismes qui s'abritent dans la partie rhizosphérique du sol. Cette symbiose s'effectue grâce à l'élongation des filaments mycéliens qui peuvent atteindre à peu près un kilomètre de long (Fortin et al., 2008). Ces filaments mycéliens agissent essentiellement pour transférer l'eau et les éléments minéraux nécessaires pour le développement des plantes-hôtes (Sim & Eom, 2006; Smith & Read, 1997).

IV.3.1 Amélioration de la nutrition phosphatée

Le phosphore (P) est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes représentant environ 0,2% de son poids sec. Le groupement phosphate entre dans la construction de divers molécules comme les acides nucléiques (ADN, ARN), les enzymes, les phosphoprotéines et les phospholipides, ce qui lui confère un rôle structurel fondamental. Les plantes ne peuvent pas pousser sans un apport fiable de ce nutriment (Schachtman et al., 1998) qu'elles absorbent sous forme d'orthophosphate (H_2PO_4^- et HPO_4^{2-}) (Nahar et al., 2020). La biodisponibilité du P dans le sol peut ainsi varier d'une espèce végétale à l'autre selon ses capacités à modifier elle-même la disponibilité de ce nutriment ou via les organismes naturellement présents dans la rhizosphère du sol (Plassard et al., 2015).

Nombreux travaux et plusieurs synthèses bibliographiques ont été publiés sur l'effet bénéfique du mycorhize dans l'amélioration de la nutrition minérale (phosphatée, azotée et en oligo-éléments) et la nutrition hydrique. Les premiers travaux réalisés ont montré que les racines de Hêtre mycorhizées absorbaient le phosphate inorganique (Pi) à des vitesses beaucoup plus fortes (5 à 20 fois plus élevées) que celles non mycorhizées. En outre, des plantules de *Pinus radiata* mycorhizés ont une capacité d'absorption du Pi plus élevée que celles des racines courtes non colonisées (Plassard et al., 1988). Par ailleurs, il a été prouvé que l'inoculation de *Phaseolus vulgaris* par les *Piriformospora indica* a augmenté de manière significative l'absorption de phosphore de 200% par rapport aux plantes non inoculées (Beltayef et al., 2020). La relation symbiotique endomycorhizienne change les voies d'absorption de Pi présent dans la plante hôte par la mise en place d'une "voie

mycorrhizienne" qui peut assurer de 20 à 100% de l'entrée de Pi dans les plantes endomycorhizées (Plassard et al., 2015).

IV.3.2 Amélioration de la nutrition azotée

L'azote (N) est un élément essentiel pour la croissance des plantes (Zheng et al., 2013). Il s'agit d'un composant majeur de l'acide nucléique (ADN), des protéines (la chlorophylle), des acides aminés, des enzymes, en plus des pigments nécessaires à la photosynthèse (Chapin & Kedrowski, 1983). C'est un élément limitant la productivité de la plante (Clarholm, 1993). D'une façon générale, les arbres forestiers mycorrhiziens spécialement ectomycorhizés absorbent l'ammonium (NH_4^+) plus rapidement que le nitrate (NO_3) (Botton & Chalot, 1999). Par ailleurs; l'étude de l'absorption d'ammonium chez le CEM *Paxillus involutus* a montré qu'elle a lieu grâce à un symport proton-dépendant (Javelle & Chalot, 1999). Il est également important de noter que le nitrate peut être efficacement réduit en ammonium par l'intermédiaire de l'enzyme nitrite réductase sécrétée par certains CEMs (Botton & Chalot, 1999). D'autres espèces fongiques (CEMs) sont capables de produire des protéases extracellulaires qui jouent un rôle important dans l'utilisation de l'azote protéique (Botton & Chalot, 1999).

IV.3.3 Amélioration de la nutrition en oligo-éléments

Les oligo-éléments entrent dans divers réaction enzymatiques et jouent un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides (Kabata-pendias & Pendias, 2001). Ces éléments sont peu mobiles dans le sol et leur prélèvement est essentiellement due à une meilleure exploration du sol par les hyphes extra racinaires de mycorhizes (Nouaim & Chaussod, 1996). Plusieurs études ont montré l'utilité de la relation symbiotique mycorrhizienne dans l'absorption des oligo-éléments. Les racines des plantes (*Pinus massoniana*) inoculées avec des CEMs peuvent accumuler le Zn et le Cu plus que celles non mycorhizées (Yu et al., 2020). You et al. (2021) ont montré que la colonisation du *Phragmites australis* par les Champignons mycorhiziens arbusculaires (CMAs) améliore l'extraction du Zn et du Cd.

IV.3.4 Amélioration de la nutrition hydrique

La pauvreté des sols arides et semis arides en éléments nutritifs et également la longue période sèche qui peut se prolonger pendant plusieurs mois, provoquent une restriction dans

les ressources nutritives et hydrique des plantes. Ces conditions stressantes poussent les plantes à chercher ces ressources loin de la rhizosphère ; cela s'effectue à l'aide des hyphes de l'association symbiotique mycorhizienne. Püschel et al. (2020) ont prouvé que l'inoculation de la plante *Medicago truncatula* par le champignon AM *Rhizophagus irregularis* a augmenté son absorption d'eau (Püschel et al., 2020). Zarik et al., (2016) ont démontré que l'inoculation de *Cupressus atlantica* G avec des CMAs a augmenté la tolérance à la sécheresse grâce à une meilleure absorption d'eau directement par les hyphes extraracinaire étendus des champignons AM. De leur part, Lehto et al.,(2011) ont prouvé que les ectomycorhizes jouent un rôle important dans l'absorption d'eau par les plantes. La **Figure 26** représente les modèles des voies possibles pour le transport de l'eau entre le sol et le xylème racinaire dans une racine ectomycorhizienne d'une gymnosperme.

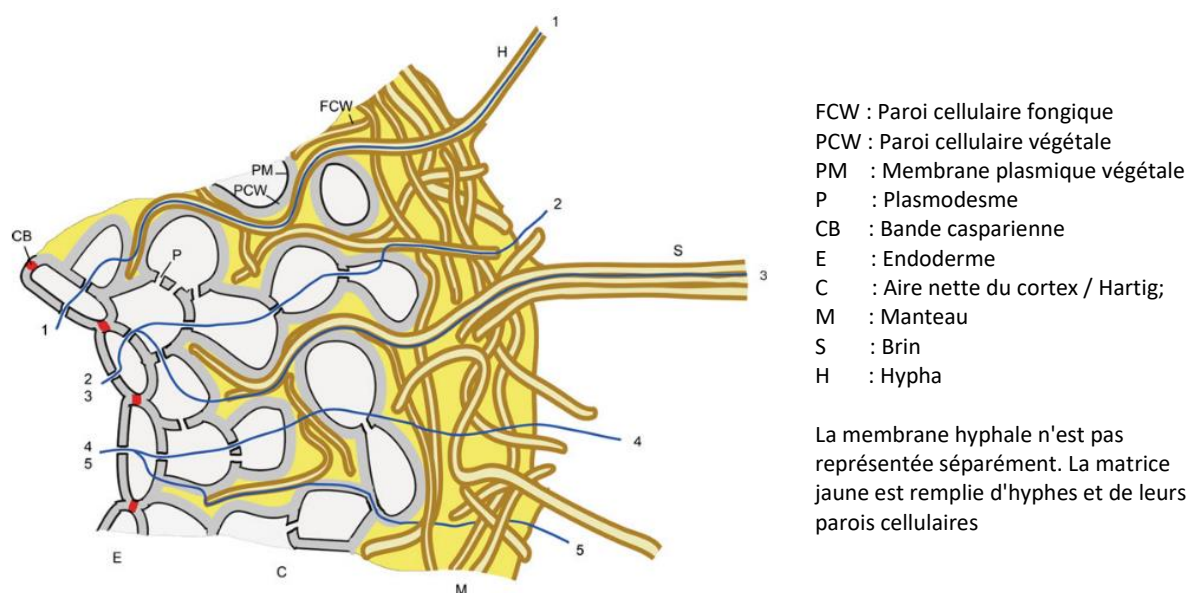


Figure 26. Voies possibles pour le transport de l'eau entre le sol et le xylème racinaire dans une racine ectomycorhizienne d'une gymnosperme (Lehto & Zwiazek, 2011)

- (1) L'eau pénètre dans un hyphe individuel dans le sol et est transportée dans le symplaste fongique puis se déplace vers le symplaste racinaire à travers l'apoplaste partagé;
- (2) Identique à (1) sauf que l'eau pénètre dans le symplaste de l'hyphe dans le manteau;
- (3) L'eau pénètre dans l'apoplaste d'un brin mycélien et est transportée dans l'apoplaste fongique et végétal puis pénètre dans la cellule racinaire;
- (4) Voie transmembranaire, l'eau passe à travers plusieurs membranes fongiques et végétales puis dans le symplaste végétal;
- (5) L'eau se déplace dans l'apoplaste fongique et végétal jusqu'à l'endoderme où la bande casparienne la force dans le symplaste (Lehto & Zwiazek, 2011) .

IV.3.5 Tolérance aux stress environnementaux

Le développement des plantes dans leur milieu naturel est influencé par différents facteurs qui peuvent perturber les différentes ressources favorables à leur fonctionnement; cependant les plantes mycorhizées ont la capacité de supporter ces changements. Les résultats de plusieurs études ont montré que la tolérance des plantes au stress hydrique était améliorée par la colonisation par des CMs (Al-Karaki & Clark, 1998). La symbiose mycorhizienne joue un rôle crucial dans la promotion de la croissance des plantes et les protège des effets néfastes de divers stress, y compris la salinité (Hameed et al., 2014). Pour faire face à la salinité, différentes stratégies d'association des plantes avec des microorganismes bénéfiques du sol peuvent jouer un rôle important dans l'adaptation de ces plantes aux conditions environnementales défavorables. Dans leur travail de recherche réalisé dans ce sens, Guerrero-Galán et al. (2019) ont montré que les CEMs qui colonisent spécialement les racines des plantes ligneuses, semblent avoir un effet protecteur sur les plantes exposées à de fortes quantités de sel.

IV.3.6 Champignons mycorhiziens comme agents de bioprotection

Les diverses interactions entre les constituants de la nature peuvent être bénéfiques ou néfastes, et les végétaux eux-mêmes peuvent également être perturbés par les éléments pathogènes présents dans leur environnement en particulier le sol. Pour se protéger contre ces menaces, les plantes ont développé des systèmes de protection y compris l'établissement de l'association symbiotique mycorhizienne qui peut prédisposer la plante à réagir plus rapidement aux attaques pathogènes (Harrier & Watson, 2004). L'usage des mycorhizes en agriculture doit alors être considéré comme une stratégie proactive à la lutte biologique. D'après de nombreuses recherches effectuées à ce jour, l'application des CMAs constitue une méthode de prévention prometteuse, facile d'utilisation et respectueuse de l'environnement, et la présence des MA permet de réduire substantiellement l'apport externe d'intrants chimiques, de fertilisants et de pesticides (Dalpé, 2005). Parmi les chercheurs qui ont réalisé des travaux dans ce sens, Reyes-Tena et al., (2017) ont montré l'existence d'un effet associatif avec la co-inoculation par des CMs et les actinomycètes dans la promotion de la croissance végétale et la bioprotection contre le flétrissement causé par *Phytophthora capsici* chez les poivriers. De leur part, Minchin et al. (2012) ont prouvé que les ectomycorhizes ont un effet positif sur la performance des semis en raison de la relation bénéfique entre les plantes et les CMs. Ils sont également efficaces contre diverses maladies de la pourriture des racines des plantes (Duchesne, 1994). De nombreuses études ont démontrées le rôle protecteur de l'CEM non

seulement contre les pathogènes fongiques (Morin et al., 1999) mais également contre les nématodes (Machon et al., 2006). De plus, Akema et al., (2005) ont démontré l'importance de la symbiose CEM pour contrôler la maladie du flétrissement du pin, qui est une menace à l'échelle mondiale.

IV.4 Le rôle des ectomycorhizes en matière de phytoremediation et leur impact sur les métaux lourds

Les champignons mycorhiziens vivent avec la plupart des espèces végétales et sont présents dans la plupart des sols naturels et anthropiques. Ils ont de nombreux intérêts dans la phytoremédiation des sols pollués. Les MC permettent de limiter la phytotoxicité des polluants grâce à leur capacité à stimuler les défenses des plantes contre les stress abiotiques. Par exemple, les plantes mycorhizées, qui sont plus résistantes aux conditions environnementales défavorables, ont des chances de survie plus importantes sur les sols pollués et sont capables de se développer plus rapidement que les plantes non mycorhizées en présence de polluants du sol (Leyval et al., 2002).

Grâce à elles, les plantes ont un meilleur accès aux nutriments de la rhizosphère. Ainsi, le taux d'absorption du phosphore par unité de longueur de la racine colonisée est 2 à 3 fois plus important que celui des racines non colonisées (Sieverding E., 1991). Par ailleurs, il a été prouvé que la fertilisation, notamment les apports en phosphore, favorise la dissipation des polluants organiques tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (Joner et al., 2002). De plus, les CM permettent l'exploration d'un volume de sol nettement plus important et par conséquent une plus grande dissémination des polluants. En effet, la prolongation des hyphes extraracinaires augmente la surface de contact entre les minéraux du sol et la racine. La longueur des hyphes a été estimée entre 81 et 111 m par cm³ de sol (Miller et al., 1995).

De plus, ils sont capables d'explorer des zones non accessibles aux plantes non-mycorhizées pour prélever de l'eau et des nutriments et les transférer à la plante hôte. Ils permettent l'élimination des polluants métalliques et organiques. Les CM contribuent à l'immobilisation des métaux traces dans les sols pollués en modifiant la structure du sol par l'action du réseau mycélien et la production de glomaline. Cette dernière est détectée en grande quantité dans les fractions organiques du sol et possède une forte capacité à se lier aux éléments traces métalliques (Vodnik et al., 2007). Certains travaux in situ ont également montré que l'inoculation mycorhizienne peut favoriser la dispersion de polluants organiques

persistants tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (Joner et al., 2001) et les polychlorobiphényles (Teng et al., 2010).

L'effet des CMA sur la biodégradation de ces composés serait dû à un effet indirect via la stimulation et la modification de la structure des communautés microbiennes de la rhizosphère. En effet, la stimulation de la croissance des plantes, et en particulier des racines, modifie les caractéristiques physico-chimiques du sol au niveau de son microporosité comme de son macroporosité (modification du pH, du potentiel redox, de la température, de l'aération, de l'humidité, de la salinité) entraînant des modifications des propriétés biologiques et microbiologiques notamment par la stimulation des populations bactériennes et fongiques saprotrophes dégradantes de la mycorrhizosphère (Joner et al., 2001). Par ailleurs, Verdin et al. ont également montré, par des essais réalisés *in vitro* et en l'absence de tout autre chlore du sol, que la symbiose mycorhizienne des racines de *Glomus intraradices* pouvait améliorer la dispersion de l'anthracène par une meilleure biodégradation et accumulation de cet hydrocarbure aromatique polycyclique dans les globules lipidiques des cellules racinaires et fongiques (Verdin et al., 2006)

V Site minier abandonnée kettara

V.1 Historique de la mine Kettara

L'activité du gisement Kettara a connu trois stades de la mise en valeur selon le type de mine extrait (Huvelin, 1977), i) de 1938 à 1963, le départ de la mine était focalisé sur l'extraction d'oxyde de fer (limonite, minerai de fusion) par le fameux compartiment qui existe encore à ce jour « chapeau de fer ». Les tonnages extraits étaient respectivement de 150 000 t à 45-52% Fe et 50 000 t à 50-58% Fe. ii) de 1955 à 1966, au cours de cette période de la vie du gisement une autre exploitation était apparue, c'est l'extraction de l'espèce minérale « la pyrite » dont les réserves étaient estimées à 180 000 t à 38% S et aussi la fabrication de l'acide sulfurique, avec récupération du cuivre provenant de la chalcocite et de la covellite. iii) de 1964 à 1982, les dernières années d'activité du gisement ont connu une exploitation du minerai primaire pour le soufre de la pyrrhotite (usine de production d'acide sulfurique à Safi). Environ 30 millions de tonnes à 25% S et 0,6% Cu sont les réserves du minerai brut calculées avec 8 millions de tonnes ont été extraites (Mouttaqi et al., 2011). En 1982, la MK était fermée à cause d'un certain nombre de contraintes et de difficultés liées: i) au stockage de la pyrrhotite; oxydation très rapide; ii) à la pauvreté en soufre du minerai (25%); iii) à la quantité des résidus cendreux.

À-peu-près 28 hectares de rejets miniers toxiques ont été abandonnés à la pluie, au soleil et au vent. Ces déchets non traités provoquent des perturbations dans l'équilibre environnemental et engendrent d'ailleurs d'importants problèmes de santé (Hakkou et al., 2008). Des études scientifiques approfondies de la MK liées à différents aspects biologique, chimique, géologique ont été réalisées (Esshaimi et al., 2012; M. Lghoul et al., 2012; Meriem Lghoul, 2014; Samiha Nfissi et al., 2011)

VI Forêt de Guedmioua

VI.1 Localisation

La forêt de Guedmioua se situe à environ 60 km au sud-ouest de la ville de Marrakech et à 4 km au sud-est de la ville d'Amizmiz. Ses coordonnées géographiques sont (X = 228529.26 / Y = 71561.08) (<https://tool-online.com>).

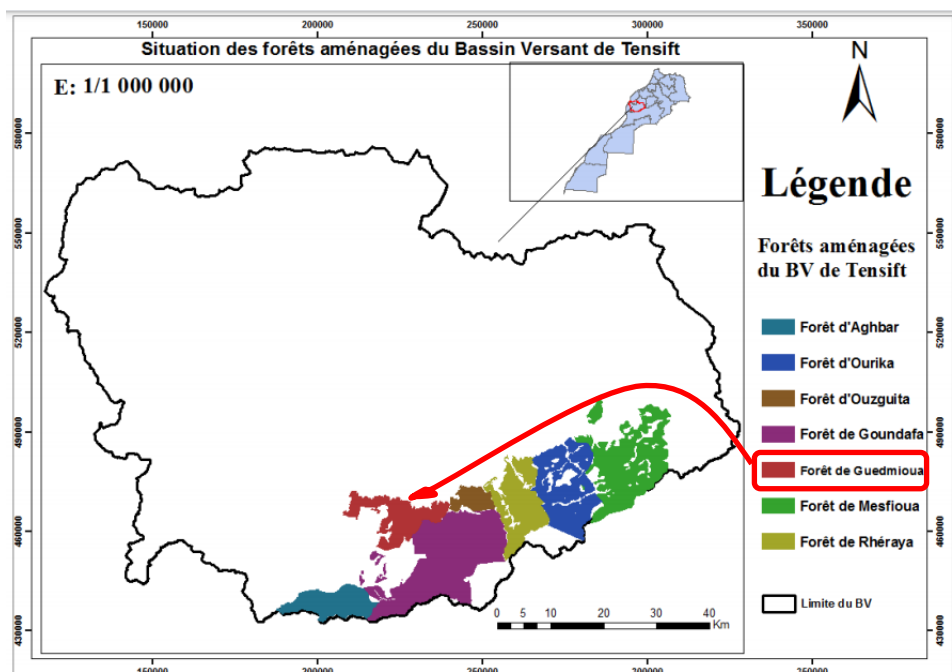


Figure 27. Situation géographique des forêts aménagées du bassin versant de Tensift (Réalisé à partir des PV d'aménagements des forêts) (Meliho, 2015)

VI.2 Présentation de la forêt

La forêt de Guedmioua est parmi les forêts aménagées qui existent dans le bassin versant de Tensift (**Figure 29**), avec une superficie de 21.911 ha (Meliho, 2015), au-dessus du poste forestier de Tizguià une Altitude de : 1650 m avec une pluviométrie moyenne de 700 mm/an. Le programme de plantation de la foret s'est déroulé entre 1943 à 1955 (Hajib et al., 2013). Elle contient un ensemble d'espèces végétales (**Tableau 7**).

Tableau 7. Différents types d'espèces végétales plantées dans la forêt du Guedmioua (Hajib et al., 2013).

Espèces <i>Pinus</i>	Espèces divers
<i>Pinus halepensis</i>	<i>Cedrus atlantica</i>
<i>Pinus pinaster</i> (var. <i>maghrebiana</i>)	<i>Robinia pseudoacacia</i>
<i>Pinus pinea</i>	<i>Cupressus arizonica</i>
<i>Pinus brutia</i>	<i>Eucalyptus sideroxylon</i>
<i>Pinus canariensis</i>	<i>Cupressus atlantica</i>
	<i>Fraxinus angustifolia</i>
	<i>Juglans regia</i>
	<i>Gleditschia triacanthos</i>

VI.2.1 Données géologiques

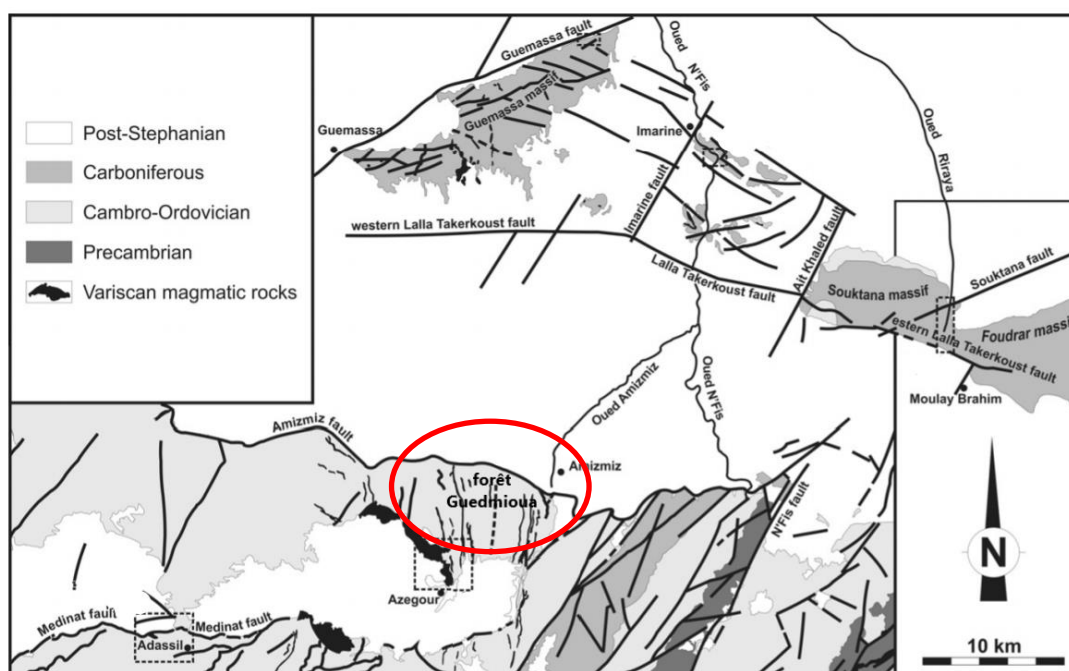


Figure 28. Principales caractéristiques géologiques du nord-ouest du Haut Atlas et de la plaine adjacente du Haouz. (Dias et al., 2011)

Le Haut Atlas occidental est principalement composé de métasédiments du Paléozoïque inférieur déformés de manière omniprésente au cours de l'orogénèse varisque. L'empreinte structurale principale est considérée comme étant d'âge carbonifère **Figure 28**(Dias et al., 2011). Le choix des proportions utilisées s'est basé sur plusieurs études qui ont utilisé divers amendements pour minimiser le taux des ETMs présents dans les sols pollués (Cobb et al., 2000; Singh & Sinha, 2005).

CHAPITRE II: MATÉRIELS ET MÉTHODES

I Description du site d'étude

I.1 Mine abandonnée de Kettara

I.1.1 Localization

La mine abandonnée de Kettara de coordonnées (x : 236989.41 y : 145074.97) se situe à peu près à 30 km au Nord-Ouest de la ville de Marrakech, Maroc (*Figure 29*). Elle se localise au niveau du massif des Jebilets.

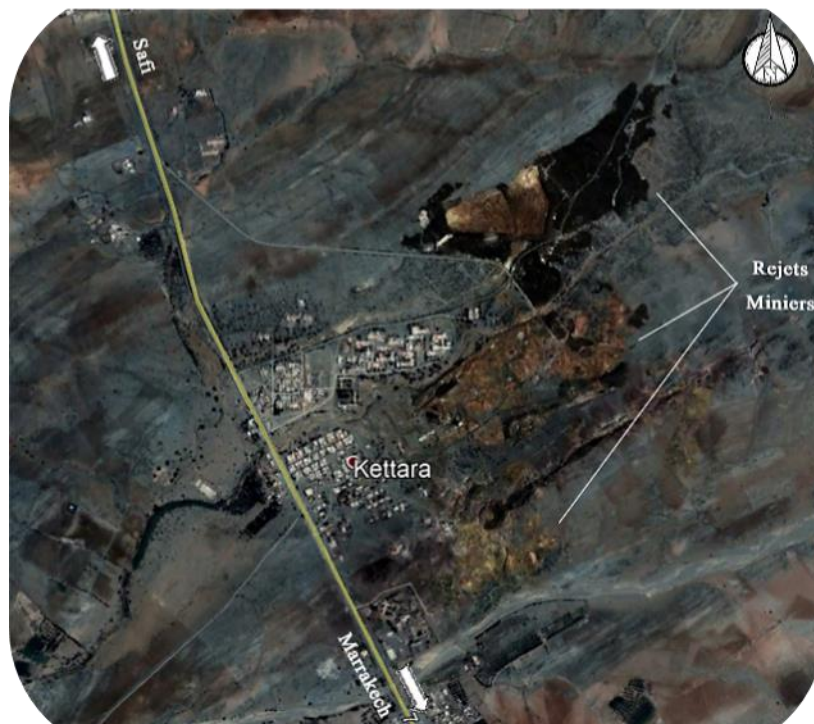


Figure 29. Photo aérienne du site minier Kettara
(Google earth altitude de prise 5,03km date des images satellite 25/06/2020)



Figure 30. Photo panoramique de la partie sud du site minier Kettara «chapeau de fer»

I.1.2 Données géologiques

Le site minier Kettara appartient à l'unité centrale du massif des Jebilets formé de plaines rocheuses (roches paléozoïques) ainsi que de collines à relief modéré (400 à 1000 m). Il se caractérise par l'intensité de l'activité magmatique pré à syn-orogénique qu'a connu cette région vers la fin du Carbonifère (Huvelin, 1977). La région est caractérisée géologiquement par la présence de soufre (pyrrhotite) des filons de métaux de base ce qui a favorisé l'implantation de plusieurs mines (Kettara, Sghalef, Koudia Hamrra, Bir Nehass, Koudia Lbida, Sidi-Bou Othmane). Elles sont actuellement abandonnées après une immense exploitation minière des métaux de base (Zn, Cu, Pb) laissant derrière elles un fort rejet minier riche en ETMs, et des constructions et des usines en ruines dispersées dans l'environnement sans aucun traitement.

I.1.3 Données climatiques

Le site minier Kettara est caractérisé par un climat semi-aride avec une pluviométrie annuelle de 250mm/an, tandis que, la saison pluvieuse est enregistré dans l'intervalle mensuelle de octobre à avril ainsi la saison sèche est enregistré dans les de moins à septembre. Concernant la température ce minier est caractérisé par un température varie de 12°C au mois de janvier et 29°C au mois de juillet avec une humidité relative de 73% à 33% respectivement dans les mois même, en ce qui concerne les vents soufflent dans cette région est chauds de type Chergui et sirocco surtout au mois de juillet et les vent dominate qui sont faible qui souffle de l'ouest et du nord ouest .en plus Evapotranspiration annuel est de 2500 mm/an.

II Échantillonnage

II.1 Sols

L'objectif principal de notre étude est l'utilisation d'une technique de dépollution biologique. En effet, le sol étudié est caractérisée par une composition et une texture légèrement hétérogène (*Figure 32*). Des campagnes d'échantillonnage ont été mises en place pendant le mois de Mai 2017 selon un protocole d'échantillonnage bien défini. Alors, nous avons effectué le protocole de l'échantillonnage composite à des plans aléatoires (Belkessam & Lemièrre, 2006). En effet la stratégie du prélèvement du sol est effectuée au hasard sur les différentes dunes de résidus dans le champ d'étude (*Figure 31*). Les échantillons ont été prélevés après l'enlèvement de 2 cm de couche superficielle (Midhat et al., 2019) pour prélever environ 3-4 kg de masse de sol pollué à chaque point d'échantillonnage (*Figure 32*).

Ces différents échantillons ont été mis dans des sacs en polyéthylène pour éviter l'échappement de la poudre de sol (Midhat et al., 2019). Au laboratoire, nous avons procédé un mélange de tous les échantillons afin d'obtenir un échantillon homogène qu'on utilisera dans la préparation de substrat de culture.

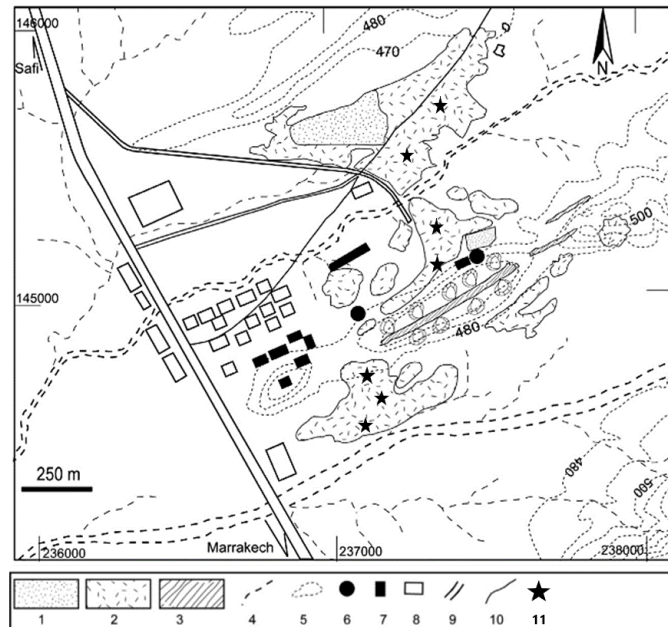


Figure 31. Localisation des zones de prélèvements des sols et résidus miniers du site de Kettara (El Amari et al., 2014)

1-Bassin de retenue; 2- Terrils, 3-Gossan; 4-Talweg; 5 Courbe de niveau; 6 Puits ; 7 - Bureaux de la mine; 8- Village de Kettara; 9-Route ; 10-Ancienne voie; 11-Échantillons

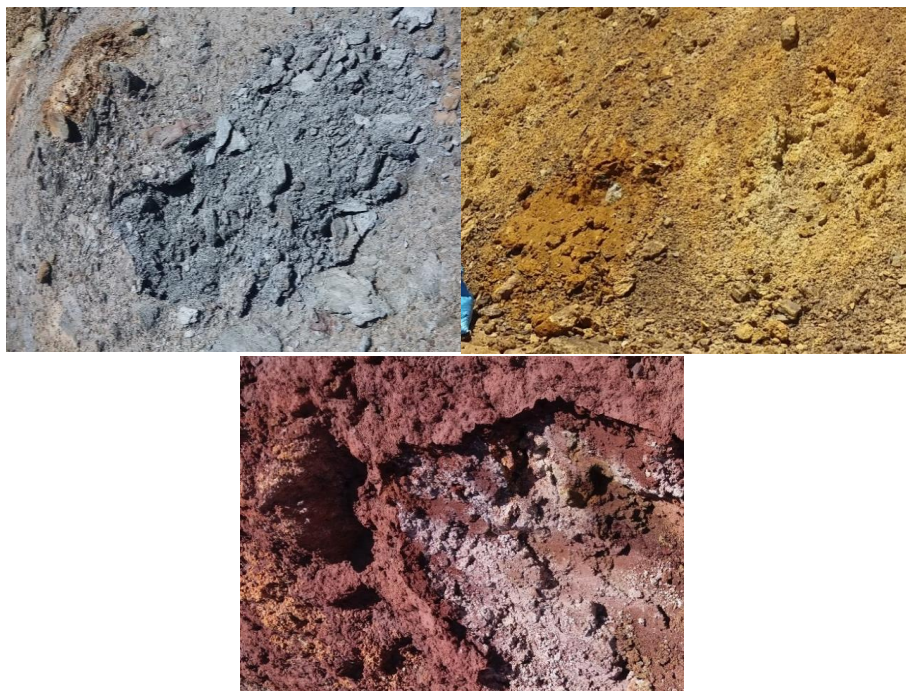


Figure 32. Exemples de types de résidus collectés sur le site de la MK .

Avant l'utilisation du SMK, nous avons procédé à un certain nombre d'opérations afin de mieux l'adapter aux traitements ultérieurs. Premièrement, nous avons éliminé manuellement les grosses particules et les matériaux étranges qui sont susceptibles d'interférer avec l'évolution des racines des plantules pendant nos expériences.

II.2 Récolte des fructifications de champignon

L'espèce de champignon de notre étude est liée particulièrement au choix de l'espèce de la plante hôte. En effet, l'espèce *Pinus halepensis* est colonisé généralement par des CEMs. Alors, notre choix s'est porté sur les fructifications du champignon (genre *Scleroderma*). En effet, en Mai 2017 nous avons réalisé une visite sur lieu à la forêt Guedmioua pour chercher et récolter ces fructifications. En outre, cet appareil reproducteur est développé pendant une période de l'année bien définie de point de vue conditions climatiques, température et humidité. Pour cela notre prospection des champignons est focalisée dans les zones humides de la forêt et sous les arbres du *Pinus halepensis* (**Figure 34- Figure 35**)(Bâ et al., 2011; Nounsi et al., 2014).

Les fructifications récoltées étaient immédiatement stockées dans des sacs en papier cirés et transportés immédiatement au laboratoire (Prance & Fechner, 2017) afin de préparer la suspension de spore utilisée dans la l'inoculation des plantules hôtes.

Les fructifications fraîches du champignon *Scleroderma* récoltées de la forêt de Guedmioua ont été légèrement nettoyées pour éliminer les mycéliums étrangers, les autres particules de racines et de sol, qui peuvent provoquer une contamination microbienne. Après séchage à l'air libre, ces fructifications ont été broyées à l'aide d'un broyeur à l'eau distillée stérile jusqu'à l'obtention d'une solution homogène contenant les spores en suspension (Gaba-chahboub et al., 2016). Cette suspension a été stockée à 4°C jusqu'à son utilisation (Gagnon & Lamhamedi, 2011). L'inoculation a été réalisée en injectant la suspension obtenue à travers des trous en contact avec les racines (**Figure 33**) (Repac, 2011).

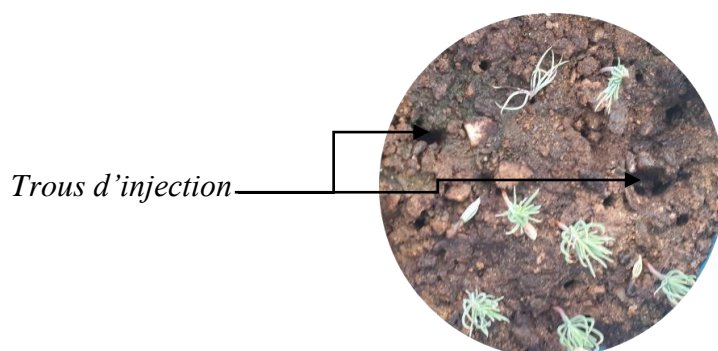


Figure 33. Inoculation des plantules



Figure 34. Image satellitaire représentant la forêt de Guedmioua
 (— limite du forêt ; ● les points de prise des échantillons)
 (Google earth altitude de prise 7.26 km)

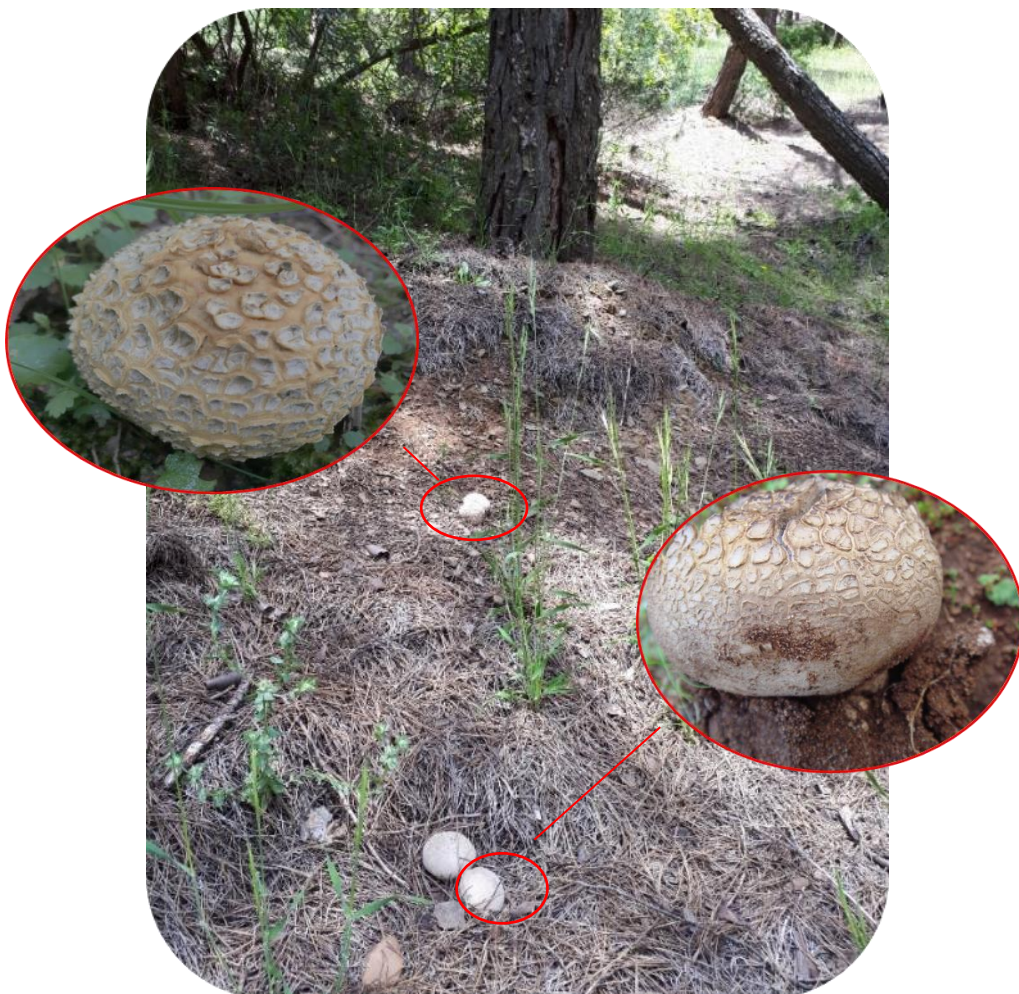


Figure 35. Photos des fructifications prélevées dans la forêt de Guedmioua

III Germination des graines

Les graines de *Pinus halepensis* ont été collectées de la pépinière de la Direction provinciale des eaux et forêts de Marrakech. Au laboratoire, les graines ont subi un prétraitement afin de réduire leur période de dormance. Pour cela nous les avons mis sous des conditions appropriées reproduisant celles de la nature sauvage (Nedjimi et al., 2014). La méthode « stratification » qui consiste à mettre les graines dans le sable légèrement humidifié pendant 14 jours à 25°C (Nedjimi et al., 2014). Ensuite, les graines ont été mises à germer, dans des boîtes de Pétri stériles contenant du papier filtre avec 10 graines par boîte. Les boîtes de Pétri sont imbibées quotidiennement de 5 ml d'eau distillée. Ainsi, les graines germées sont celles qui présentaient une radicule de 1 mm comme indiqué la forme numéro 2 dans la *Figure 36* (Nedjimi et al., 2014).



Figure 36. Photo présentant les premiers stades de germination des graines de pin d'Alep

IV Composition du substrat de culture

Le substrat de culture choisi pour le déroulement de l'expérience est basé essentiellement sur la composition physico chimique du SMK et aussi de l'espèce de la plante hôte et du champignon

- Préparation du SMK :

Les échantillons du SMK sont ensuite entreposés dans un four Pasteur à une température de 120°C pendant une durée de 40 minutes afin de les désinfecter par l'élimination des microflore natives de la Mine (Bilgo et al., 2012).

Le taux élevé des ETMs présents dans SMK bloque l'évolution des plantules. Pour diminuer ce taux élevé des ETMs nous avons procédé par la dilution du SMK par l'ajout du sable.

- Préparation du sable :

Le sable est issu de la dune de sable de la région de Safi. Avant d'être utilisé, le sable a subi plusieurs opérations, à commencer par le tamisage (2 mm) pour éliminer tous les débris tels que les pierres, les plantes et les animaux. Ensuite, un lavage du sable avec de l'eau de robinet a été effectué pour diminuer le taux de salinité afin de ne pas perturber le développement des semis (Bouda & Haddioui, 2011). Dans une bassine remplie d'eau on verse le sable en mélangeant puis on verse l'eau à nouveau ; on répète opération trois fois, puis laissé le sable sécher à l'air libre.

En outre, la préparation du substrat de culture a été réalisée selon les pourcentages de 0 à 100% pour préparer une série de pots qui pèsent 5 kg (masse finale du contenant et contenu) (*Tableau 8*).

Tableau 8. Pourcentages du sable et du SMK servant à la préparation des substrats de culture.

<u>Taux de Pollution</u>	<u>Sable</u>	<u>SMK</u>
0%	100%	0%
10%	90%	10%
25%	75%	25%
50%	50%	50%
75%	25%	75%
100%	0%	100%

V Plantation des graines

Les graines germées ont été plantées dans des pots de 5 litres (10 graines/pots) en effet le nombre de graines planté dans chaque pot est établi sur l'idée qu'il y'aura des plantules morts. En plus, on a éliminé des plantules pour qu'il rest seulement 3 plantules par pots pour évité la compétition entre eux. En outre, on a effectué trois répétions pour qu'il soit une matière représentatifs dans l'analyse statique . Deux groupes de pots ont été préparés (*Figure 37*), l'un mycorhizé (M) (inoculé avec le suspension de spores fongiques mycorhiziennes) et l'autre non mycorhizé (NM) (non inoculé). Les plantules ont été cultivées en serre expérimentale de la faculté des science samlaliya, Marrakech, Maroc(Les plantules ont été arrosées quotidiennement pour maintenir en permanence le milieu de culture humide afin d'assurer l'évolution des plantes et du champignon.



Figure 37. Série de pots utilisés dans l'expérience

La méthode utilisée pour l'application de la contrainte hydrique est celle décrite par (Guissou et al., 2001). Soit P_1 le poids du pot plein de sol sec. On arrose ensuite le sol jusqu'à saturation, puis on le laisse égoutter sous l'effet de la pesanteur pendant 48 h. Le sol a ainsi à la capacité au champ (CC). Soit P_2 le poids du pot après écoulement de l'eau en excès. La différence ($P_2 - P_1$) correspondra au volume d'eau nécessaire à l'obtention de la capacité au champ du sol utilisé (100 % CC).

VI Récolte des plantules

Après six mois de culture, les plantules mycorhizées et non mycorhizées ont été soigneusement retirées (**Figure 38**). Par la suite, ces plantules ont été nettoyées minutieusement avec de l'eau distillée afin d'éliminer les particules du sol attachées aux racines (Midhat et al., 2019). Pour préserver les apex mycorhiziens attachés à la racine nous poursuivons cette étape avec beaucoup de précautions.

VII Mesure de la taille des plantules et de la biomasse des plantules

À l'état frais, les plantules ont été séparées en deux ; partie aérienne (PA) et partie racinaire (PR). En effet, nous avons mesuré la longueur de Pr et Pa (**Figure 39**) puis la mesure de la masse fraîche de chaque partie a été réalisée. Pour réaliser un séchage complet, les deux parties des plantules ont ensuite été mises au four à une température de 70 °C pendant 48 h en pèse les échantillons jusqu'à la stabilité du poids afin de mesurer avec exactitude leur masse sèche (Midhat et al., 2019).

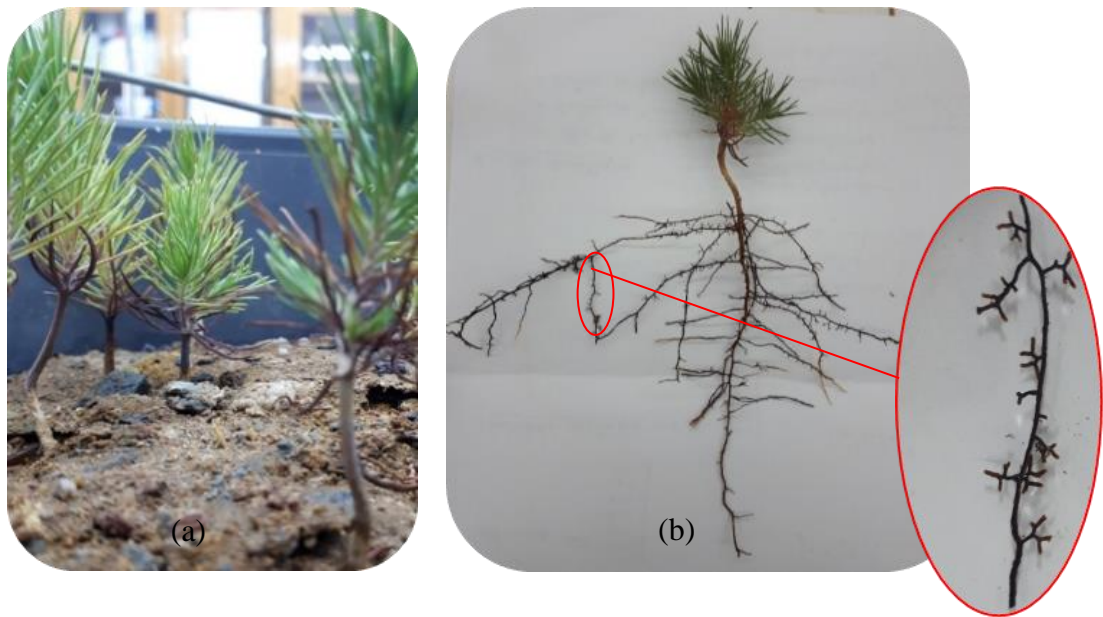


Figure 38. Photos des plantules du pin d'Alep après six mois de culture avant (a) et après (b) récolte.

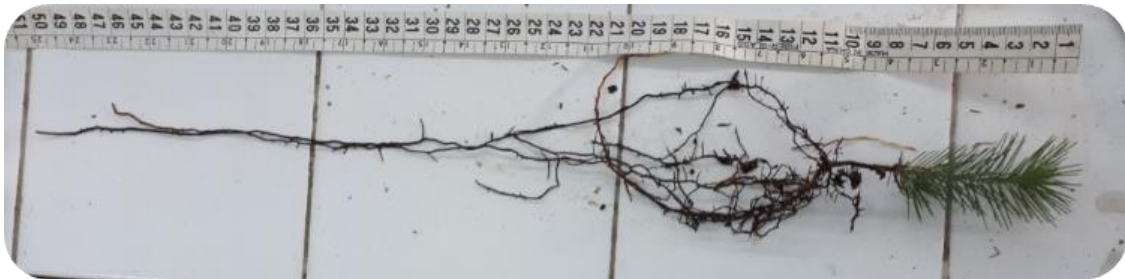


Figure 39. Photo de plantule de pin d'Alep en mesurant de la taille

VIII Taux de colonisation ectomycorhizienne

La relation symbiotique ectomycorhizienne est caractérisée par une couche de filament mycélien créant le manteau fongique qui change l'aspect morphologique macroscopique des racines. Le dénombrement des apex mycorhizés et ceux non mycorhizés permet d'évaluer le pourcentage de colonisation ectomycorhizienne (%CEM), qu'on peut calculer en utilisant *Éq 2* (Pacé et al., 2020; Yan et al., 2019). Pour cela les PRs des plantules mycorhizées de chaque taux de pollution ont été prises puis coupées en petits morceaux et mises ensuite sous stéréomicroscopie afin d'observer et dénombrer les apex mycorhizés et les apex non mycorhizés.

$$\%CEM = \frac{\text{Nombre de racines courtes ectomycorhiziennes}}{\text{Nombre total de racines courtes}} \times 100 \quad \text{Éq 2}$$

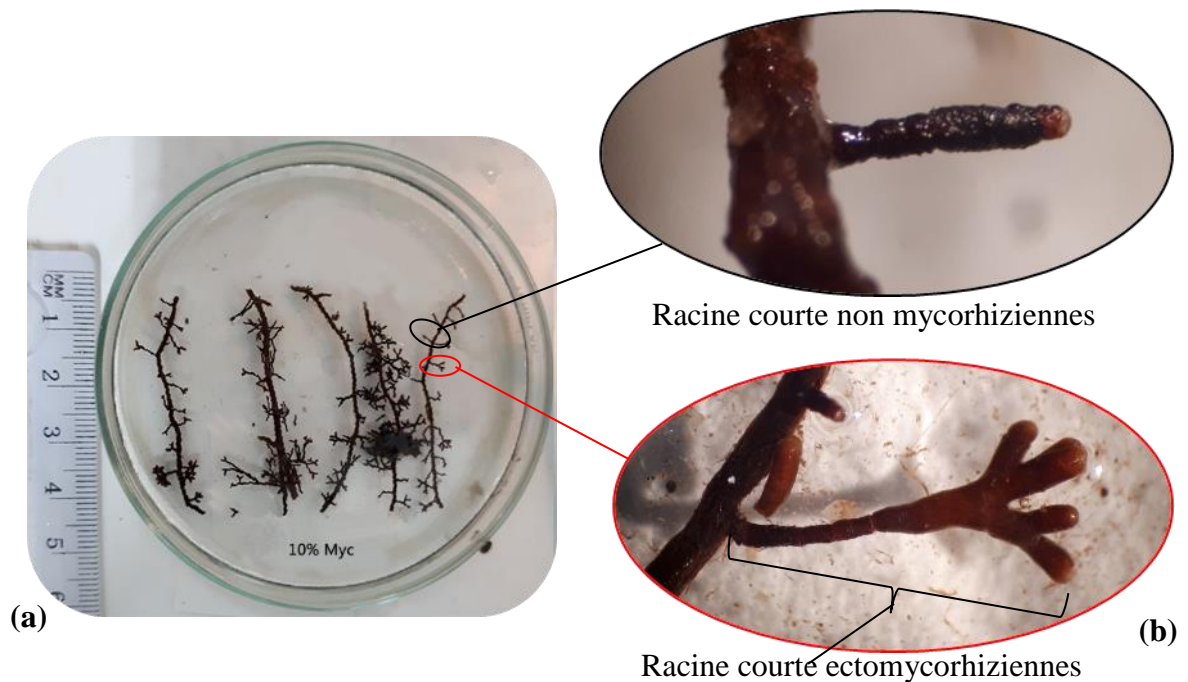


Figure 40. Photo des morceaux des racines du pin d'Alep colonisé par genre *Scleroderma* mycorhizées vue à l'œil nue (pourcentage de pollution 10%) (a) : Photos représentant les apex mycorhizés et non mycorhizés sous stéréomicroscopie (b) .

IX Caractérisation physico-chimique des échantillons

Les mesures des paramètres physiques (pH, conductivité électrique (CE)) ont été effectuées à l'aide d'une sonde multiparamètres de type LF 92 WTW qui possède une sonde multi-paramètre qui mesure et affiche jusqu'à 12 paramètres (pH, conductivité, ...)

- Le pH et la CE sont déterminés respectivement dans une suspension aqueuse (1v:2v, sol:eau distillée), et (1v:5v sol:eau distillée).
- La texture a été déterminée à l'aide de la méthode de la pipette Robinson associée à un tamisage.
- L'équivalent en carbonates de calcium a été déterminé à l'aide du calcimètre de Bernard.
- Le carbone organique total (COT) a été déterminé par la méthode d'Anne (Aubert, 1978).
- L'azote total Kjeldahl (ATK) a été déterminé par la méthode Kjeldahl (Bremner, 1996).

- Les éléments majeurs et les ETMs dans le sol sont dosés par fluorescence au rayon X en utilisant l'analyseur FXR portable (Olympus Delta, UK).

L'échantillon à analyser est placé sous un faisceau de rayons X. issu d'un analyseur FXR portable (*Figure 41*) Sous l'effet de ces rayons X, les atomes constituant l'échantillon passent de leur état fondamental à un état excité. L'état excité est instable, les atomes tendent alors à revenir à l'état fondamental en libérant de l'énergie, sous forme de photons X. Chaque atome, va émettre des photons d'énergie et de longueur d'onde propres. C'est une méthode d'analyse qualitative et quantitative nondestructive.



Figure 41. Analyseur FXR portable (Olympus Delta, UK).

Les ETMs présent dans les plantes sont dosés à l'aide de spectrophotomètre à flamme type SAA (Shimadzu AA-6300)(*Figure 42*).



Figure 42. Spectroscopie d'Absorption Atomique SAA (Shimadzu AA-6300)

L'appareil mesure une absorbance qui permet de doser le nombre de particules dans la flamme et donc la concentration de l'élément suivant la loi de Beer et Lambert:

$$A = k \times l \times C \quad \text{Éq 3}$$

où (A) correspond à l'absorbance, (k) au coefficient d'absorption de l'élément à doser, (l) au parcours optique dans le brûleur et (C) à la concentration de la solution en mol.l⁻¹. Les résultats sont exprimés en mg.l⁻¹ MS.

Le dosage est effectué à la longueur d'onde correspondant à la raie de résonance (la plus intense du spectre) et implique par conséquent d'utiliser une gamme adaptée pour chaque élément. Ainsi, les gammes d'étalonnage de Pb, Cd, Cu et Zn ont été réalisées à partir des solutions standards préparées de Pb(NO₃)₂, CdCl₂, Cu(SO₄), H₂O et ZnCl₂. Les longueurs d'onde analytiques utilisées étaient, Pb : 220,35 nm, Cd : 228,80 nm, Cu : 324,75 nm et Zn : 213,86 nm.

IX.1 Potentiel hydrogène (pH)

Le pH est un paramètre physique du sol très important; il est influencé par divers facteurs notamment l'apport des engrais. Le pH joue un rôle essentiel dans la vie microbienne et dans la croissance des plantes car il influence la disponibilité des éléments nutritifs dans le sol. Le pH est déterminé par la méthode potentiométrique à l'aide d'un pH mètre selon le protocole expérimental suivant:

- Tamisage de 10 g de sol à 2 mm ;
- Ajout de 20 ml d'eau distillée (rapport 1/2) ;
- Agitation pendant 30 minutes ;
- Lecture de la valeur du pH.

IX.2 Conductivité électrique

La mesure du paramètre de la CE permet d'évaluer la salinité du sol. La CE peut donc influencer l'équilibre microbien et surtout le début de la mycorhization. La mesure de la CE est effectuée sur une suspension eau-sol avec un rapport de 1/5 selon le protocole expérimental suivant:

- Transvasement de 20 g de l'échantillon dans 100 ml d'eau distillée ;
- Agitation de la solution pendant 30 minutes permettant la dissolution des électrolytes ;
- Filtration ;
- Lecture de la valeur de la CE.

Les résultats des mesures de la CE sont exprimés en $\mu\text{s.cm}^{-1}$ (à 20°C).

IX.3 Granulométrie

La méthode de la pipette Robinson a été utilisée pour déterminer les différentes classes granulométriques de la fraction minérale du sol. Cette détermination est précédée d'un traitement en deux étapes: i) destruction de la MO par l'eau oxygénée. ii) dispersion des

argiles par l'hexamétaphosphate de sodium. Le protocole expérimental traduisant ces deux étapes est comme suit

- Préparation de 20 g de sol ;
- Ajout de 100 ml d'eau oxygénée à 20 volumes (durée de séjour est de 24 h) ;
- Ajout de 40 ml de l'hexamétaphosphate de sodium (50 g/L) ;
- Dilution de la solution à 200 mL ;
- Homogénéisation ;
- Tamisage sous l'eau à 200 μ et 50 μ au-dessus d'une éprouvette graduée de 1 L ;
- Séchage dans une étuve à 105 °C des deux fractions de sable (Sable Fin (SF) et Sable Gros (SG)) ;
- Pesage des deux fractions SF et SG;
- Dilution à 1000 mL la suspension limono-argileuse (A + LF + LG) recueillie dans l'éprouvette lors du tamisage ;
- Homogénéisation → décantation (1 min) → prélèvement de 25 mL/profondeur (pr) 12,6 cm → séchage à 105°C pendant 24h → pesage ;
- Homogénéisation → décantation (4min 30s) → prélèvement de 25 mL/ profondeur 10 cm → séchage à 105°C pendant 24h → pesage ;
- Homogénéisation → décantation (4h) → prélèvement de 25 mL / profondeur 5 cm → séchage à 105°C pendant 24h → pesage.

Pour calculer le pourcentage de la fraction nous avons suivi la méthode suivante :

Après avoir enlevé le poids de la tare :

Les SG : Quantité pesée x 5 = valeur en % ;

Les SF : Quantité pesée x 5 = valeur en % ;

Les argiles : Quantité pesée x 200 (sert uniquement à déterminer le pourcentage des autres fractions) ;

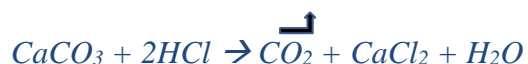
Les limons fins : Quantité pesée x 200 = Valeur obtenu – Argiles ;

Les limons grossiers : Quantité pesée x 200 = Valeur obtenu – Argiles – Limons fins ;

Les argiles : Quantité pesée x 200 = Valeur obtenu – 10 % (poids de l'hexamétaphosphate de Na).

IX.4 Calcaire total (Calcimètre de Bernard)

L'évaluation du calcaire total est réalisée par la mesure du volume de CO₂ dégagé suite à l'attaque des carbonates de calcium (CaCO₃) préalablement solubilisé par l'acide Chlorhydrique (HCl) selon la réaction 1:



Réaction 1

Pour réaliser cette mesure nous avons suivi le protocole expérimental suivant:

- Broyage très fin de 1g de terre ;
- Introduction dans un erlenmyer ;
- Remplissage du tube à hémolyse au 3/4 avec HCl au 1/2 ;
- Introduction avec précaution dans le vase à réaction (l'erlenmyer) ;
- Fermeture du vase (l'erlenmeyer) avec le bouchon ;
- Vérification du niveau de référence de la burette (NaCl saturé) et notation de sa valeur ;
- Écoulement rapide de l'acide sur l'échantillon en inclinant le flacon ;
- Agitation du flacon jusqu'à cessation du dégagement gazeux ;
- Notation sur la burette en prenant soin d'équilibrer les niveaux dans l'ampoule et dans la burette (reflet le volume de CO₂ dégagé)

Après l'étalonnage du calcimètre avec (200 mg) de CaCO₃ pur, pour déterminer le volume de CO₂ dégagé, le pourcentage de CaCO₃ est enfin calculé.

IX.5 Carbone Organique Total

Le carbone de la MO est oxydé par le bichromate de potassium (oxydant puissant) en milieu sulfurique jusqu'à dégagement du CO₂ (méthode Anne décrite par Aubert., 1978). L'excès de bichromate est titré par une solution de sulfate de fer et d'ammonium (sel de Mohr) en présence d'un indicateur : le diphénylamine.

Pour réaliser cette mesure nous avons suivi le protocole expérimental suivant:

- Tamisage de 1 g de sol puis séchage à 105°C pendant une nuit ;
- Ajout de 10 mL de bichromate de potassium (K₂Cr₂O₇, 1N) dans un erlenmeyer de 250 mL ;
- Ajout de 20 mL d'acide sulfurique concentré ;
- Agitation pendant une minute ;
- Repos pendant 30 min sur une plaque en bois ;
- Ajout de 100 mL d'eau distillée pour achever la réaction ;
- Décantation pendant 2 heures ;

- Ajout de 5 mL de l'acide orthophosphorique et 3 gouttes de diphénylamine, à 25 mL de la solution ;
- Agitation ;
- Titration de l'excès de bichromate par une solution de sulfate de fer et d'ammonium N/2 jusqu'au virage vert. Un blanc est réalisé dans les mêmes conditions.

Le carbone organique total exprimé en pourcentage de matière sèche est calculé en utilisant l'équation (Eq.2) :

$$\%COT = \frac{(Vt - Ve) \times F}{P \times Vt} \quad \text{Éq 4}$$

COT : Carbone organique total en pourcentage de matière sèche ;

Vt : Volume de titre de témoin en ml ;

Ve : Volume de titre de l'échantillon en ml ;

F : Facteur de correction: 3,9 ;

P : Poids de la prise d'essai en g.

IX.6 Azote kjeldahl Total NTK

La détermination de l'Azote kjeldahl Total NTK est réalisée en deux étapes:

- La digestion de l'échantillon dans l'acide sulfurique concentré à des températures élevées pour convertir l'azote minéral sous forme ammoniacal ;
- La détermination de l'ammonium dans l'extrait par titration de NH_3 dégagé par distillation à vapeur.

i) Digestion

- Préparation de 0,5 g de sol (matras) ;
- Ajout de 5 ml de l'acide sulfurique concentré ;
- Ajout de 0,5 g du catalyseur Kjeldahl ;
- Chauffage (bouillonnement) jusqu'à ce que les échantillons deviennent blancs ;
- Refroidissement sous la hotte ;
- Récupération du minéralisât dans 100 ml d'eau distillée pour la distillation. Un blanc est réalisé dans les mêmes conditions.

ii) Distillation

- Mise de l'échantillon dans un matras de distillation ;
- Ajout de quelques gouttes de phénolphtaleine 1 % ;
- Ajout de la soude 40 % (400 g/l d'eau distillée) jusqu'à l'obtention d'une coloration rose ;

- Préparation de 10 ml de l'acide borique (10 g/l d'eau distillée) dans un erlenmeyer de 250 ml ;
- Dosage avec le H₂SO₄ N/50 (0,02 N) + quelques gouttes de l'indicateur Tachero (Virage : bleu - incolore – rose).

Donc l'azote total Kjeldahl (NTK) exprimé en mg.l⁻¹ est donné par la formule suivante :

$$\text{NTK}(\text{mg. l}^{-1}) = \frac{N(\text{Ve} - \text{Vt}) \times 14 \times 1000}{V} \quad \text{Éq 5}$$

où

$$\text{NTK}(\%) = \frac{N(\text{Ve} - \text{Vt}) \times 1.4}{P} \quad \text{Éq 6}$$

- NTK* : Azote Total Kjeldahl ;
Ve : Volume de titre de l'échantillon ;
Vt : Volume de titre de témoin ;
N : Normalité de l'acide sulfurique du dosage ;
V : Volume en ml de la prise d'essai ;
P : Poids en gramme de la prise d'essai.

IX.7 Phosphore assimilable (P Olsen)

Le phosphore est extrait du sol par une solution de bicarbonate de sodium 0,5M à pH constant de 8,5. Dans les sols calcaires, alcalins ou neutres contenant du Phosphore lié au calcium, cette solution d'extraction fait diminuer la concentration du calcium en provoquant sa précipitation sous forme de carbonate de calcium CaCO₃ et la concentration de P augmente dans l'extrait. Le dosage du phosphore est réalisé par colorimétrie basée sur la formation et la réduction d'un complexe de l'acide orthophosphorique et de l'acide molybdique. La réduction du phosphore-molybdate s'accompagne d'une coloration bleue ciel dont l'intensité est proportionnelle à la quantité du phosphore présent dans le milieu considéré.

Pour réaliser cette mesure nous avons suivi le protocole expérimental suivant:

- Pesage de 1 g de sol ;
- Ajout de 20 ml de bicarbonate de sodium 0,5 M (NaHCO₃) ;
- Agitation pendant 1 heure ;
- Filtration ;
- Préparation de 1 ml du filtrat + 4 ml de l'eau distillée + 5 ml du réactif AB ;
- Maintien au bain marie pendant 10 min puis refroidissement ;
- Lecture au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 820 nm.

IX.8 Détermination des éléments majeurs et les ETMs dans le sol et dans les tissus végétaux

Les éléments majeurs et ETMs dans le sol sont dosés par fluorescence au rayon X (Olympus, UK). Les concentrations des ETMs dans les tissus végétaux ont été analysées selon la méthode de Tazuin et Juste (1986).

- Broyage ;
- Tamisage ;
- 1g de poids sec de tissu végétal ;
- Calcination dans un four à moufle à 450 °C pendant 4 h ;
- Mélange les cendres obtenues avec une solution d'eau régale (25% de HNO₃ et 75% de HCl) pendant 4h ;
- Filtration la solution avec un filtre de nitrate de cellulose de 0,45 µm ;
- Ajustement à 10 ml avec HCl à 10% ;
- Mesure les concentrations des ETMs en utilisant de Spectroscopie d'Absorption Atomique (SAA) en mode flamme (Shimadzu AA-6300) (AFNOR X 31-151).

X Facteur de Translocation (FT) et facteur de bioaccumulation (FB)

Le facteur de translocation (FT) permet d'évaluer la capacité de la plante à transférer les ETMs des racines vers les tissus aériens.

$$FT = \frac{[\text{Métal}]_{\text{pousse}}}{[\text{Métal}]_{\text{racine}}} \quad \text{Éq 7}$$

Le facteur de bioaccumulation (FB) permet de déterminer l'efficacité de la plante pour accumuler les ETMs du sol (Hazrat et al., 2013).

$$FB = \frac{[\text{Métal}]_{\text{pousse}}}{[\text{Métal}]_{\text{sol}}} \quad \text{Éq 8}$$

où $[\text{Métal}]_{\text{pousse}}$, $[\text{Métal}]_{\text{racine}}$ et $[\text{Métal}]_{\text{sol}}$ sont respectivement les concentrations de métaux dans les pousses, les racines et le sol.

XI Analyses statistiques

Les différences statistiques entre les valeurs moyennes de Zn, Cu, Pb et Cd dans les sols et les tissus végétaux à différents taux de dilution ont été réalisées par ANOVA à un facteur, suivi par le test de groupement Student-Newman-Keuls. La signification statistique a été déclarée lorsque $p \leq 0,05$. Toutes les évaluations statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS (Statistic Package for Social Science) (logiciel IBM SPSS Statistics 21.0, IBM, Chicago, IL, USA).

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

PARTIE 1 : L'INOCULATION DU PIN D'ALEP (*PINUS HALEPENSIS* MILLER) AVEC LE CHAMPIGNON ECTOMYCORHIZIEN *SCLERODERMA* COMME AIDE À LA PHYTOREMÉDIATION DE LA POLLUTION POLYMÉTALLIQUE DU SOL

I Introduction

Parmi les techniques biologiques actuellement utilisées pour contrôler la dissémination des ETMs dans l'environnement, la phytoremédiation est celle qui présente le moins de risques pour la vie humaine et l'environnement. Les recherches menées dans le domaine de la phytoremédiation touchent différents aspects et se concentrent en majorité sur le type de plantes susceptibles de pouvoir absorber les ETMs et d'en supporter davantage le stress qui leur est associé. En effet, l'efficacité du traitement par la phytoremédiation est fortement améliorée par l'utilisation de la relation symbiotique entre une plante et les micro-organismes présents dans son environnement surtout celles qui existent dans sa rhizosphère.

De ce fait, la synthèse bibliographique réalisée permet de suggérer que les plantules de l'espèce *Pinus halepensis* inoculé par les spores en suspension du champignon de genre *Scleroderma* peuvent également être utilisées pour lutter contre la pollution par les ETMs. Ceci nous a permis de supposer que cette association plante/champignon peut constituer une solution plus avancée pour la phytoremédiation des sols polymétalliques.

Cette partie de notre travail de recherche a pour objectif d'évaluer l'efficacité de la combinaison suggérer plante/champignon pour diminuer le taux élevé des ETMs dispersés dans le site minier abandonné Kettara. Pour cela nous avons collecté des résidus de la dite Mine et on les a dilué avec du sable selon les proportions suivantes, 10%, 25%, 50% et 75%. L'expérience en pots a été menée pendant six mois dans des conditions de serre. Les résultats obtenus révèlent que la plante étudiée possède une grande résistance même avec une forte proportion de sol contaminé (75%). En plus, on a constaté que la longueur et la biomasse moyennes des parties aériennes et des parties racinaires des plantules inoculées et non inoculées diminuent proportionnellement à l'augmentation de la proportion de sol pollué et que les plantules inoculées montrent une plus grande résistance à la pollution que les plantules non inoculées (Ouatiki et al., 2021).

II Caractérisation du substrat

II.1 Sol minier

Les résultats obtenus concernant les différents paramètres physico-chimiques des échantillons de résidus de la MK sont résumés dans le **Tableau 9**. Ces résultats montrent que la valeur du pH = $2,22 \pm 0,11$, ce qui prouve que le site de la MK est caractérisé par un pH acide. La CE qui a été mesurée a atteint une valeur de $1410 \mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$ ce qui indique la forte concentration de sels. La valeur déterminée de l'azote total Kjeldahl (TKN) représenté par un pourcentage de 0,09% est faible. La valeur déterminée du carbone organique total est relativement élevé, avec un pourcentage de 1,62 %. Les résultats des mesures des teneurs totales en éléments majeurs (Ca : $3,32 \text{ g kg}^{-1}$, S : 65 g kg^{-1} , P : $1,437 \text{ g kg}^{-1}$ et Fe : 13,12%) (**Tableau 9**) indiquent que les résidus de la MK sont pauvres en calcium et en phosphore mais sont riches en soufre et en fer. En effet, le taux élevé de soufre est probablement dû aux pyrites (FeS_2) et à la pyrrhotite (FeS) qui se combinent à d'autres sulfures métalliques. Par ailleurs, les concentrations des ETMs trouvées dans les résidus de Kettara étaient (Cu : 2396 mg kg^{-1} ; Zn 655 mg kg^{-1} ; Pb : 523 mg kg^{-1} et Cd : 65 mg kg^{-1} (**Tableau 9**).

Tableau 9. Caractéristiques physico-chimiques élémentaires des sols composites des résidus miniers de Kettara.

Paramètre	Unité	Moyenne
pH (H ₂ O)	–	$2,22 \pm 0,11$
CE	$\mu\text{S cm}^{-1}$	$1410,00 \pm 26,15$
CaCO ₃	mg g^{-1}	$5,74 \pm 1,05$
COT	%	$1,62 \pm 0,42$
MO	%	$2,802 \pm 0,850$
NTK	%	$0,09 \pm 0,01$
Phosphore	mg kg^{-1}	$1437,00 \pm 52,04$
Total Cu	mg kg^{-1}	$2396,00 \pm 31,93$
Total Zn	mg kg^{-1}	$655,00 \pm 1,38$
Total Pb	mg kg^{-1}	$523,00 \pm 2,12$
Total Cd	mg kg^{-1}	$65,00 \pm 4,82$
Ca	g kg^{-1}	$3,32 \pm 0,34$
S	g kg^{-1}	$65,00 \pm 2,16$
Fe	%	$13,12 \pm 0,08$
Sable grossier	%	$17,00 \pm 2,00$
Sable fin	%	$55,00 \pm 1,00$
Limon	%	$22,00 \pm 1,00$
Argile	%	$6,00 \pm 1,00$

Toutes les données ont été présentées sous forme de valeurs moyennes \pm écart type, $n = 3$.

La comparaison de ces concentrations à celles des éléments traces standard présents dans les sols agricoles (Cu : 140 mg kg⁻¹, Zn & Pb : 300 mg kg⁻¹ et Cd : 3 mg kg⁻¹) indique que le site de la MK peut être considéré comme extrêmement contaminé (Council Directive of the European Communities (86/278/EEC), 1986). Selon ces résultats, les faibles valeurs de pH sont probablement dues au sulfure (Midhat et al., 2017). De plus, les faibles valeurs de NTK ont pour conséquence un rapport C/N élevé ce qui peut entraîner une perturbation de l'activité microbienne dans le sol (Remon et al., 2005; Xu et al., 2020; Yu et al., 2020). En outre, le rapport C/N est considéré comme l'un des facteurs les plus importants en raison de son lien direct avec les nutriments nécessaires aux activités microbiennes (Lv et al., 2018). On peut considérer que le pH acide et la faible fertilité sont des facteurs fortement limitants pour la croissance des plantes (Khuong et al., 2020; Yu et al., 2020). Par ailleurs, Feng et al. (2014) ont prouvé que le pH est un indicateur important de la qualité du sol et de la distribution des communautés microbiennes.

Les analyses pédologiques des résidus miniers provenant de la mine Kettara ont été réalisées sur des fractions de dimensions inférieures à 2 mm. Ainsi, la granulométrie des résidus étudiés est caractérisée par une dominance de la fraction de sable fin (*Tableau 9*) qui atteint un taux de 55%. Ces résultats indiquent que la texture du site étudié est de type sableux.

II.2 Sable

Nous rappelons tout d'abord que le substrat utilisé dans la présente étude est constitué de mélanges de sable et de SMK à différentes proportions. En effet dans le troisième chapitre nous avons présenté les caractères physico-chimiques du SMK et dans ce chapitre nous présenterons ceux du sable. La valeur de pH déterminée est de $(6,29 \pm 0,15)$ ce qui indique que le sable est un milieu relativement neutre. La valeur de la CE est de $(73,7 \pm 6,15) \mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$ indiquant une faible teneur en sel par rapport au SMK. Les valeurs de l'Azote Total Kjeldahl (NTK) et le COT sont relativement faibles et ont des valeurs respectives de 0,32 % et 0,17 %. La concentration de carbonate de calcium CaCO₃ de $(356,52 \pm 4,35) \text{mg}.\text{g}^{-1}$ obtenue est très élevée. Les teneurs totales en éléments majeurs (Ca: 15,4 g.kg⁻¹, S: 0,92 g.kg⁻¹ et P: 2,58 g.kg⁻¹) indiquent que le sable est riche en calcium. Les résultats relatifs au dosage des ETMs dans le sable ont montré que la valeur moyenne de Zn est de 16 mg.kg⁻¹ et que les autres éléments n'ont pas été détectés (nd). Le pourcentage de carbonate de calcium dans le sable est très élevé, ce qui dote le sable d'une valeur de pH élevé. Toutes ces caractéristiques du sable, lorsqu'il sera mélangé au SMK, pourraient permettre aux plantules de trouver les conditions

physico-chimiques favorables à leur développement dans ce milieu de culture. En plus, la présence de carbonates dans le substrat de culture permet d'améliorer la rétention des ETMs par précipitation (Midhat et al., 2019).

Tableau 10. Caractéristiques physico-chimiques du sable.

Paramètre (sable)	Unité	Moyens
pH (H ₂ O)	–	6,29 ± 0,15
CE	μS cm ⁻¹	73,7 ± 06,15
CaCO ₃	mg g ⁻¹	356,52 ± 4,35
COT	%	0,17 ± 0,06
MO	%	0,29 ± 0,10
NTK	mg g ⁻¹	0,32 ± 0,01
Phosphore	mg kg ⁻¹	2581,00 ± 96,35
Total Cu	mg kg ⁻¹	nd
Total Zn	mg kg ⁻¹	16,00 ± 3,32
Total Pb	mg kg ⁻¹	nd
Total Cd	mg kg ⁻¹	nd
Ca	g kg ⁻¹	15,4 ± 0,15
S	g kg ⁻¹	0,92 ± 0,04
K	g kg ⁻¹	1,92 ± 0,05

III Effet de la mycorhization sur la croissance des plantules de *Pinus halepensis*

Après six mois de culture, les résultats obtenus pour les paramètres de croissance montrent que la structure morphologique des plantules de *Pinus halepensis* inoculées avec des spores de CEM en suspension dans le substrat de culture (sol pollué/sable) varie avec la proportion de sol pollué et également avec l'inoculation fongique. Comme prévu, les graines germées puis plantés dans le substrat de culture composé à 100% de sol pollué ont été inhibées, à cause de la forte concentration des ETMs et de l'acidité extrême du SMK. La longueur moyenne des PAs et des PRs (*Figure 43 et Figure 44*) des plantules mycorhizés étaient significativement ($p < 0,05$) plus grandes que celles des plantules non-mycorhizés dans les différents taux de pollution. En effet, d'après ces résultats on constate que le

pourcentage moyen de croissance de la longueur des PAs était 24%-54%-36%-23% et 28% et des PRs était 7%-13%-77%-64%-39% en fonction de taux de pollution 0%-10%-25%-50%-75% respectivement.

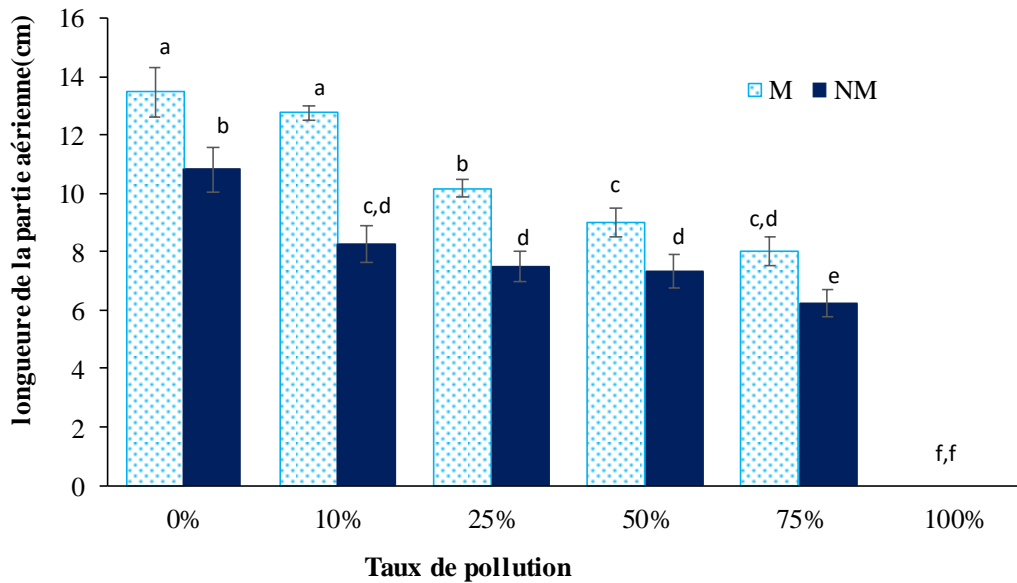


Figure 43. Longueur des parties aériennes des plantules mycorhizées (M) et non mycorhizées (NM) en fonction du taux de pollution

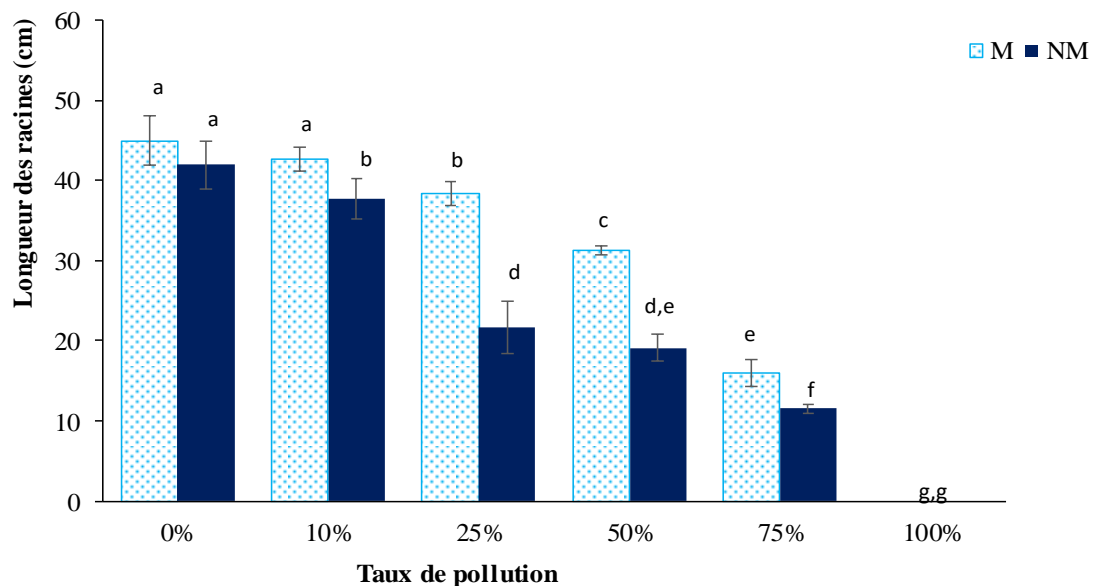


Figure 44. Longueur des parties aériennes des plantules mycorhizées (M) et non mycorhizées (NM) en fonction du taux de pollution

Tableau 11. Pourcentage de croissance moyen de biomasse sèche et de longueur de partie aérienne et partie racinaire de plantules après six mois de culture

Taux de pollution	Pourcentage de croissance moyen de biomasse sèche		Pourcentage de croissance moyen de longueur	
	Partie aérienne	Partie racinaire	Partie aérienne	Partie racinaire
0%	72	33	24	7
10%	40	33	54	13
25%	50	84	36	77
50%	28	107	23	64
75%	75	81	28	39
100%	**	**	**	**

Cette modification morphologique affecte non seulement la longueur des plantules mais aussi leurs biomasses. En outre, les résultats relatifs aux biomasses sèches obtenues sont présentés dans la *Figure 45* et *Figure 46*. On constate notamment que l'allure de l'évolution de la biomasse sèche et de la longueur des plantules sont similaires, avec toutefois des pourcentages de croissance moyens distincts (*Tableau 11*). Les pourcentages de croissance de la biomasse sèche moyenne des PAs et PRs calculés sont : (72%; 33%), (40%; 33%); (50%; 84%), (28%; 107%) et (75%; 81%) , respectivement en fonction du taux de pollution 0%, 10%, 25%, 50% et 75%.

Par ailleurs, d'après les résultats obtenus, on constate que les paramètres de croissance des deux parties des plantules mycorhizées sont plus élevés que ceux des plantules non-mycorhizées, et ce pour les différents taux de pollution du sol. Pour illustrer ce phénomène des photos représentatives de quelques plantules mycorhizées et non-mycorhizées âgée de six mois en fonction du taux de pollution de la mine étudié sont présentées dans la *Figure 45*. Cette figure montre de façon évidente une influence notable de l'inoculation avec les spores de CEMs en suspension sur l'aspect morphologique des plantules de *P halepensis*.

Les résultats obtenus confirment aussi l'effet bénéfique de cette inoculation sur la réduction de l'impact de la pollution des sols et sur l'augmentation de la capacité de la plante étudiée à tolérer un taux de pollution élevé pouvant atteindre 75%.

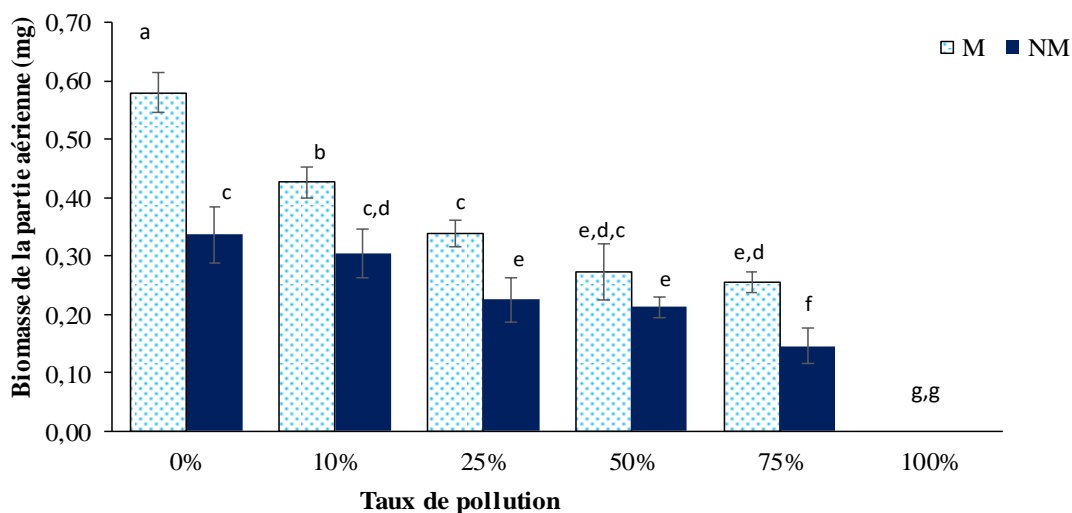


Figure 45. Biomasse des parties aériennes des plantules mycorhizées (M) et non mycorhizées (NM) en fonction du taux de pollution

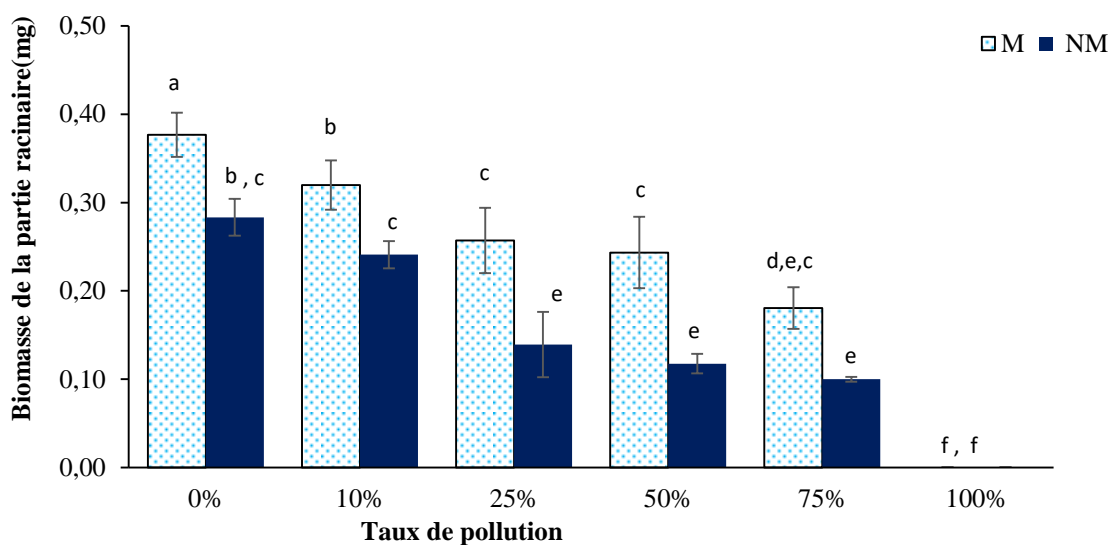


Figure 46. Biomasse des parties racinaires des plantules mycorhizées (M) et non mycorhizées (NM) en fonction du taux de pollution

Ces résultats corroborent également ceux d'autres études réalisées pour valoriser ces effets. Rincon, et al (2007) ont montré que l'inoculation par la suspension sporale de *Suillus collinitus* augmente la croissance de la plante hôte *Pinus halepensis*. En plus, Liu et al.(2020) ont présenté l'effet bénéfique de l'inoculation de l'espèce *Pinus sylvestris* avec les CEMs plantée dans un milieu pollué par les ETMs. Ils ont, en effet, montré que les CEMs améliorent

les taux de survie en accroissant la tolérance aux ETMs par la protection des systèmes photosynthétiques et l'augmentation de l'absorption des nutriments et la croissance des plantes. Ils ont indiqué également qu'en même temps les CEMs peuvent survivre dans les lots présentant des résidus des ETMs. De leur part, Zong et al. (2015) ont prouvé qu'après un mois de plantation, *Pinus densiflora* inoculé avec *Pisolithus sp.* sur les résidus de cuivre, ont un taux de survie supérieur à 50% par rapport aux plantes non mycorhiziennes avec seulement 16,7%. D'autres auteurs, comme Morte et al. (2001), avaient constaté que le nombre de pousses, la biomasse sèche totale et la teneur en chlorophylle des plantes mycorhizées étaient plus élevées que celles des plantes non mycorhizées après un stress hydrique. Radi et al. (2014) ont également montré que les mycorhizes stimulaient la croissance, la nutrition minérale et le contenu en éléments minéraux des plantes de palmier dattier dans huit sites étudiés sous les mêmes conditions de stress hydrique.

L'effet bénéfique de l'utilisation des mycorhizes en cas de stress métallique a été démontré par d'autres auteurs, qui ont montré que l'utilisation de CMAs augmentait la longueur et la biomasse des plantes par rapport à leurs homologues non inoculés par les CMAs (Chaturvedi et al., 2018).

D'après les résultats rassemblés des études effectuées sur l'effet positif de la relation symbiotique mycorhizienne avec des plantes hôtes nous pouvons conclure que CEMs agissent en favorisant l'absorption des éléments nutritifs et la croissance de la plante grâce à la réduction des concentrations des ETMs dans la rhizosphère des plantes hôtes. Par conséquent, la relation symbiotique mycorhizienne avec des plantes hôtes permet de réduire les effets toxiques des ETMs sur ces plantes, comme l'a montré également une autre étude réalisée par Tang et al. (2019).

Notre choix du genre de champignon *Scleroderma* repose essentiellement sur le critère relatif à la sélection de l'espèce végétale hôte car le *Pinus halepensis* ne peut entretenir des relations symbiotiques qu'avec les CEMs. De plus, ce genre de champignons présente des caractéristiques intéressantes car il peut stimuler le développement des plantes inoculées. Chen et al. (2006) ont démontré que l'inoculation de plants d'eucalyptus et de pins avec le champignon *Scleroderma* stimule la croissance, en l'occurrence la longueur et la masse sèche de la PA, pouvant être augmentées jusqu'à 105%. En outre, Turjaman et al. (2005) ont montré à ce sujet que le taux de survie des plantules de *Shorea pinanga* était multiplié par 3,5 par l'inoculation avec des CEMs (*Pisolutus arhizus* et *Scleroderma sp.*).

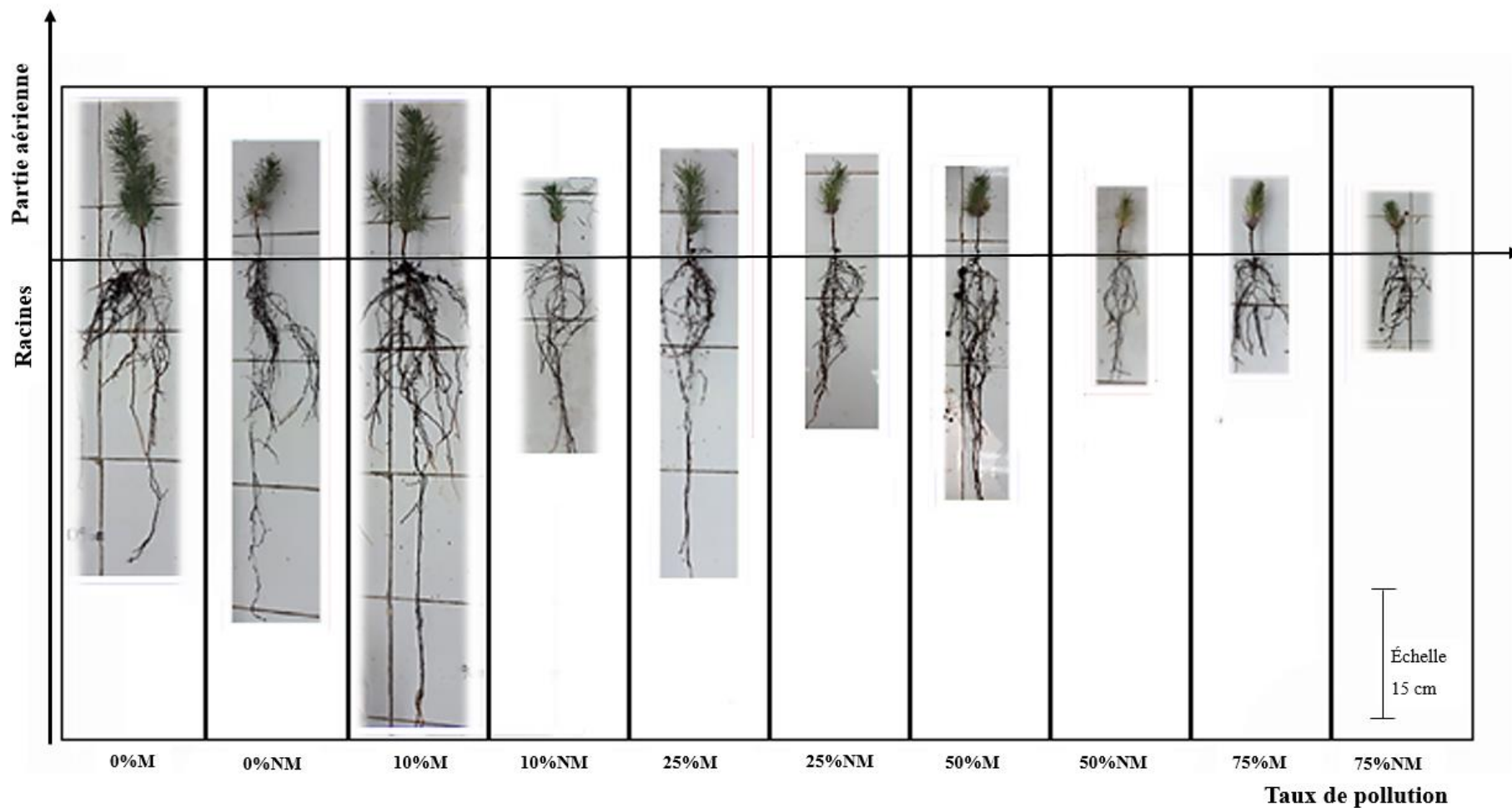


Figure 47. Photographies représentant les différentes plantules mycorhizées (M) et non mycorhizées (NM) obtenues après six mois de culture en fonction du taux de pollution de la mine abandonnée de Kettara

IV Divers morphotypes des apex ectomycorhiziens

La **Figure 48** présente l'analyse stéréomicroscopique des racines de plantules de *Pinus halepensis* colonisées par le champignon *Scleroderma* plantées dans un sol pollué dilué par du sable. Il est en effet primordial de souligner le fait que les quatre morphotypes présentés correspondent aux apex ectomycorhiziens ayant été mis en regard avec ceux obtenus par les études d'Agerer (1995).

On constate que la taille des différents apex varie de 2 à 6 mm. Par ailleurs, l'observation microscopique des apex ectomycorhiziens permet de mettre en évidence à la fois le manteau fongique ainsi que le réseau de Hartig qui caractérise la structure spécifique de ce type de champignons (**Figure 49**).

On peut observer également que sur un même morceau de racine, les quatre morphotypes d'apex de CEMs (Bâ et al., 2011):

- i) Coralloïde avec une surface lisse de couleur marron foncé (**Figure 48** (a)) ;
- ii) Dichotomiques avec une surface lisse de couleur marron clair (**Figure 48** (c)) ;
- iii) Dichotomique avec apex clair jaunâtre clair et brun noir (**Figure 48** (b)) ;
- iv) Irrégulièrement pennée avec une surface plane de couleur marron clair (**Figure 48** (d)).

Ce sont principalement les études morphologiques qui permettent la classification des ectomycorhizes. Par exemple, Matsuda and Hijii (1999) ont classé trente-sept types d'ectomycorhizes sur la base de leur apparence morphologique, de leur couleur et de leurs caractéristiques de manteaux fongiques. De leur part, Olchowik et al. (2020) ont fait une classification des ectomycorhizes en utilisant différents critères morphologiques et anatomiques à savoir la couleur, la forme, la texture l'épaisseur du manteau, la présence et l'organisation des hyphes ainsi que les rhizomorphes.

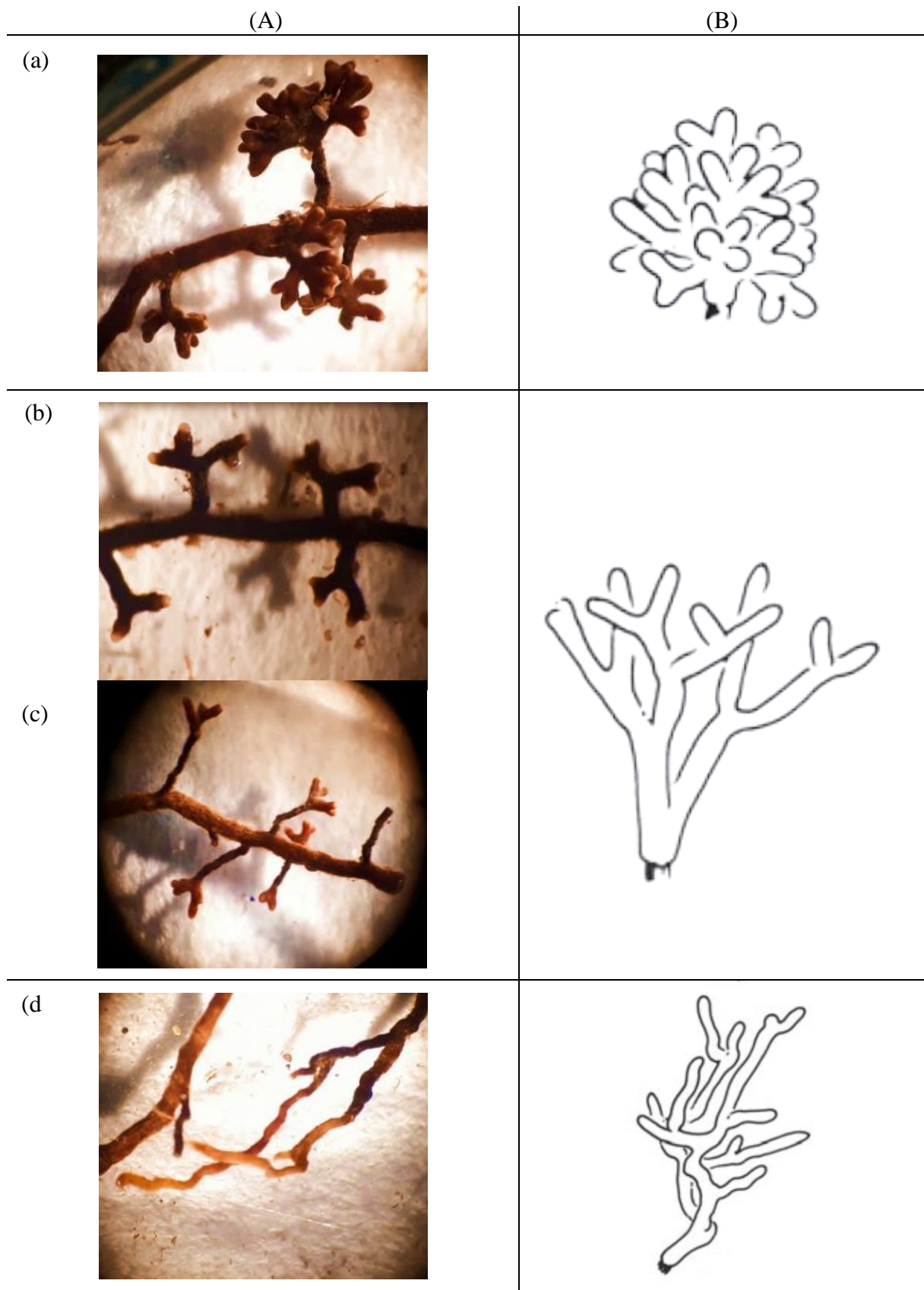
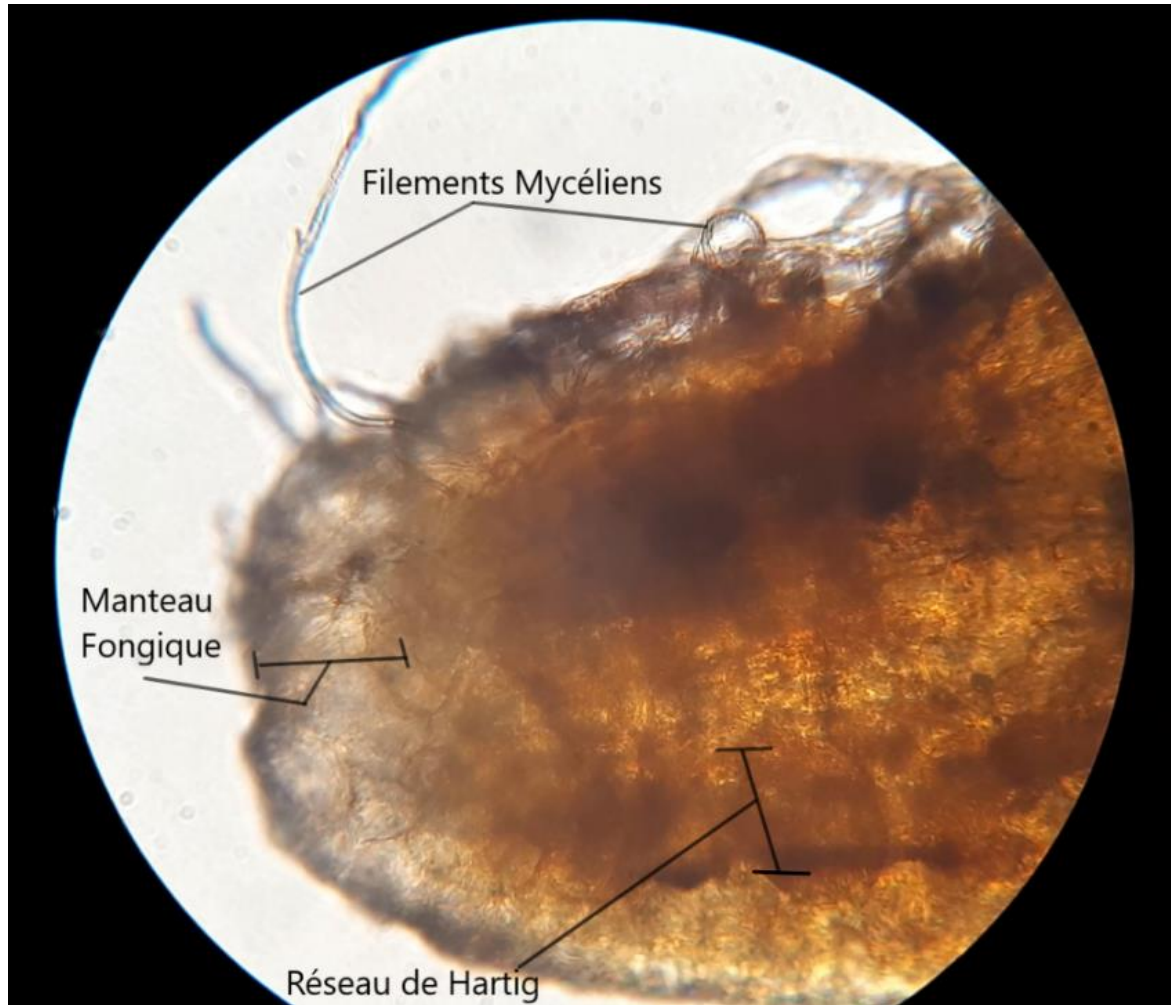


Figure 48. (A) Divers morphotypes des apex ectomycorhiziens vus sous stéréomicroscope

(Agerer, 1995)

(a) coralloïde (b)-(c) dichotomique (d) irrégulièrement pennée.



(G:x 100)

Figure 49. Apex mycorhizien de la racine du pin d'Alep vu sous microscope optique

V Taux de mycorhization

La *Figure 50* résume les résultats des moyennes du taux de mycorhization des plantules de *Pinus halepensis* en fonction du taux pollution. En effet, dans cette expérience, nous constatons que le taux de mycorhization diminue de 78,2% à 50% lorsque le taux de pollution est augmenté de 0% et 75% respectivement. Cette même évolution a été démontrée par Kraigher et al. (2007) qui ont prouvé que le taux de mycorhization était significativement plus fort dans la parcelle non polluée que dans les parcelles de plus en plus polluées. De leur côté, Chaturvedi et al. (2018) ont mis en exergue que le taux de mycorhization diminuait progressivement avec l'augmentation des concentrations de Cu ou de Cd lorsqu'ils ont utilisé les mêmes plants mycorhiziens de *Pinus thunbergii*.

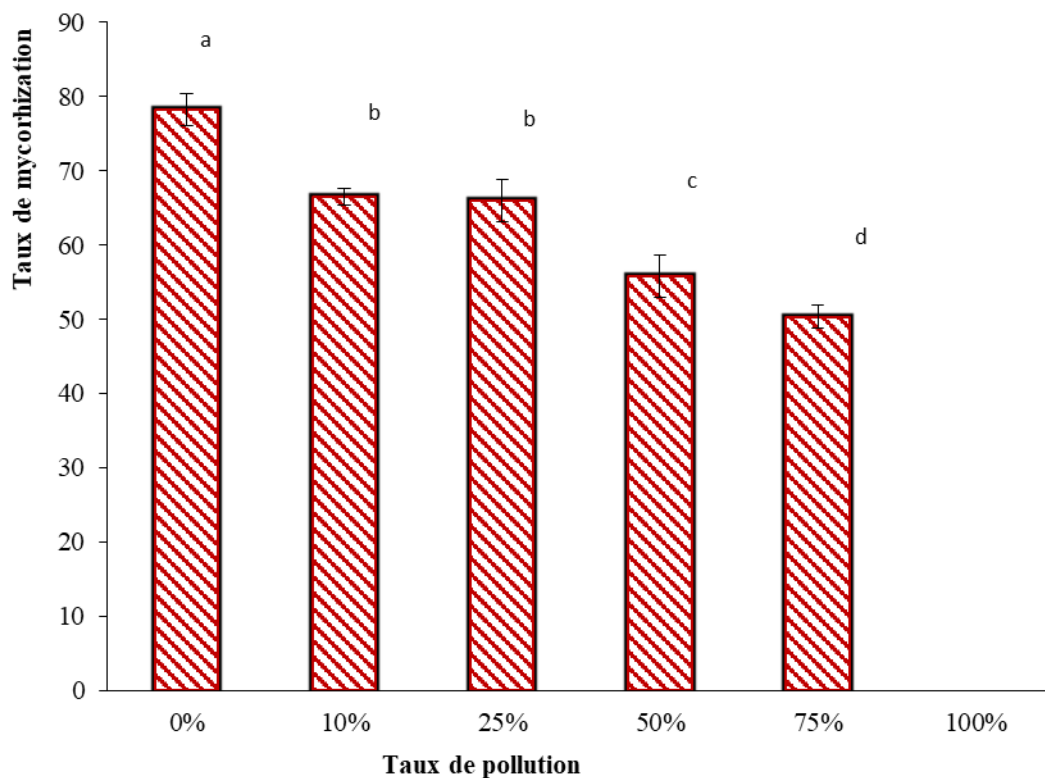


Figure 50. Taux de mycorhization des plantules de *Pinus halepensis* en fonction du taux pollution

VI Corrélation des paramètres de croissance avec le taux de mycorhization

Les corrélations linéaires entre la longueur des racines mycorhiziennes, la biomasse racinaire mycorhiziennes et le nombre d'apex mycorhiziens d'une part et la colonisation mycorhizienne des racines de *Pinus halepensis* d'autre part sont représentées respectivement dans la **Figure 50**, la **Figure 51** et la **Figure 52**.

Les résultats obtenus révèlent un haut niveau de dépendance qui se traduit par l'obtention de coefficients de corrélation de 0,78 ; 0,82 et 0,79 respectivement pour les paramètres morphologiques suivants: longueur de la racine principale, la biomasse des racines et nombre d'apex mycorhizés. Ces résultats confirment parfaitement ceux obtenus par Gaba-Chahboub, et al (2016) qui confirment les corrélations étroites entre la mycorhization et les paramètres de croissance des plantules hôtes.

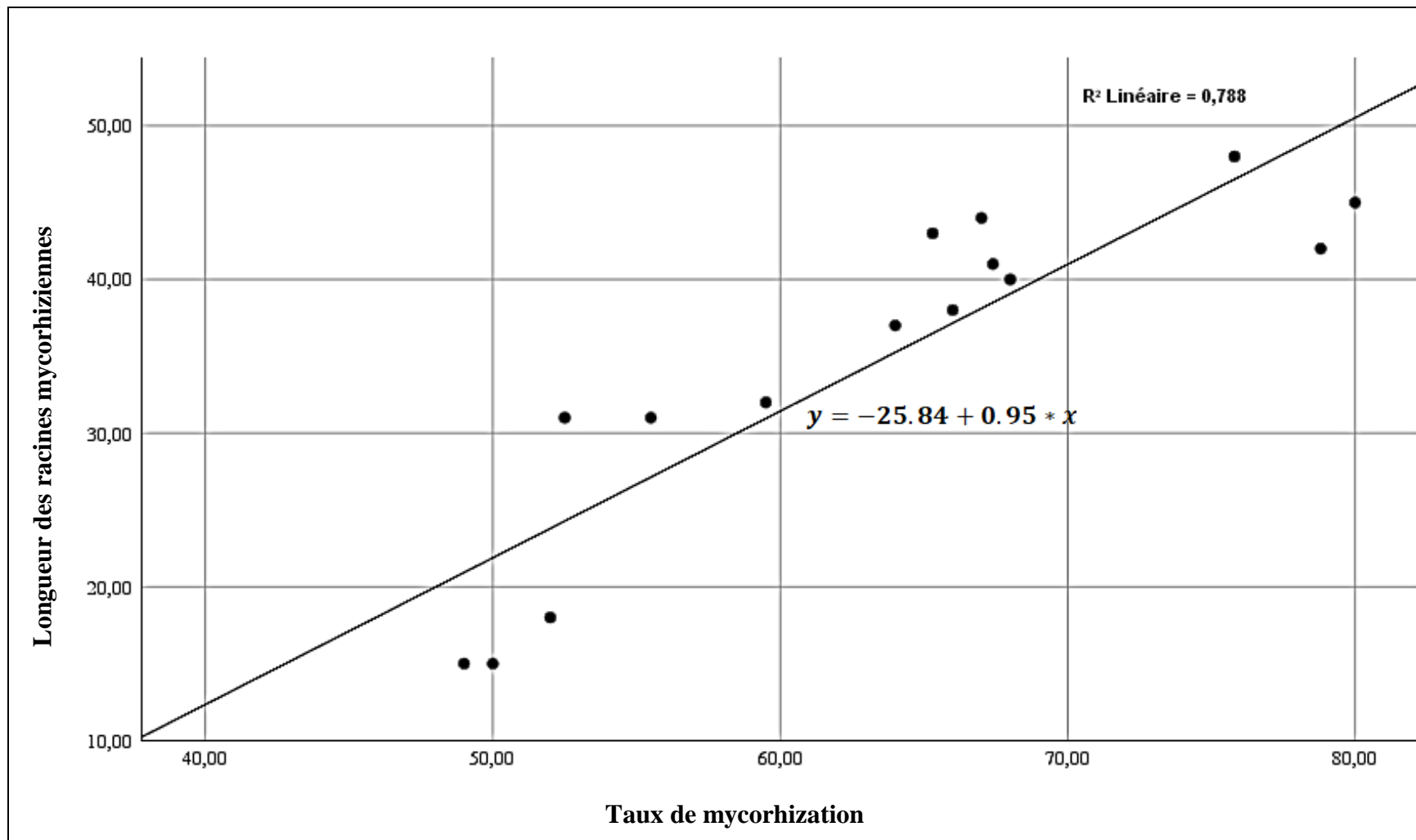


Figure 51. Corrélation linéaire entre la longueur des racines mycorhiziennes et la colonisation mycorhizienne des racines de *Pinus halepensis*

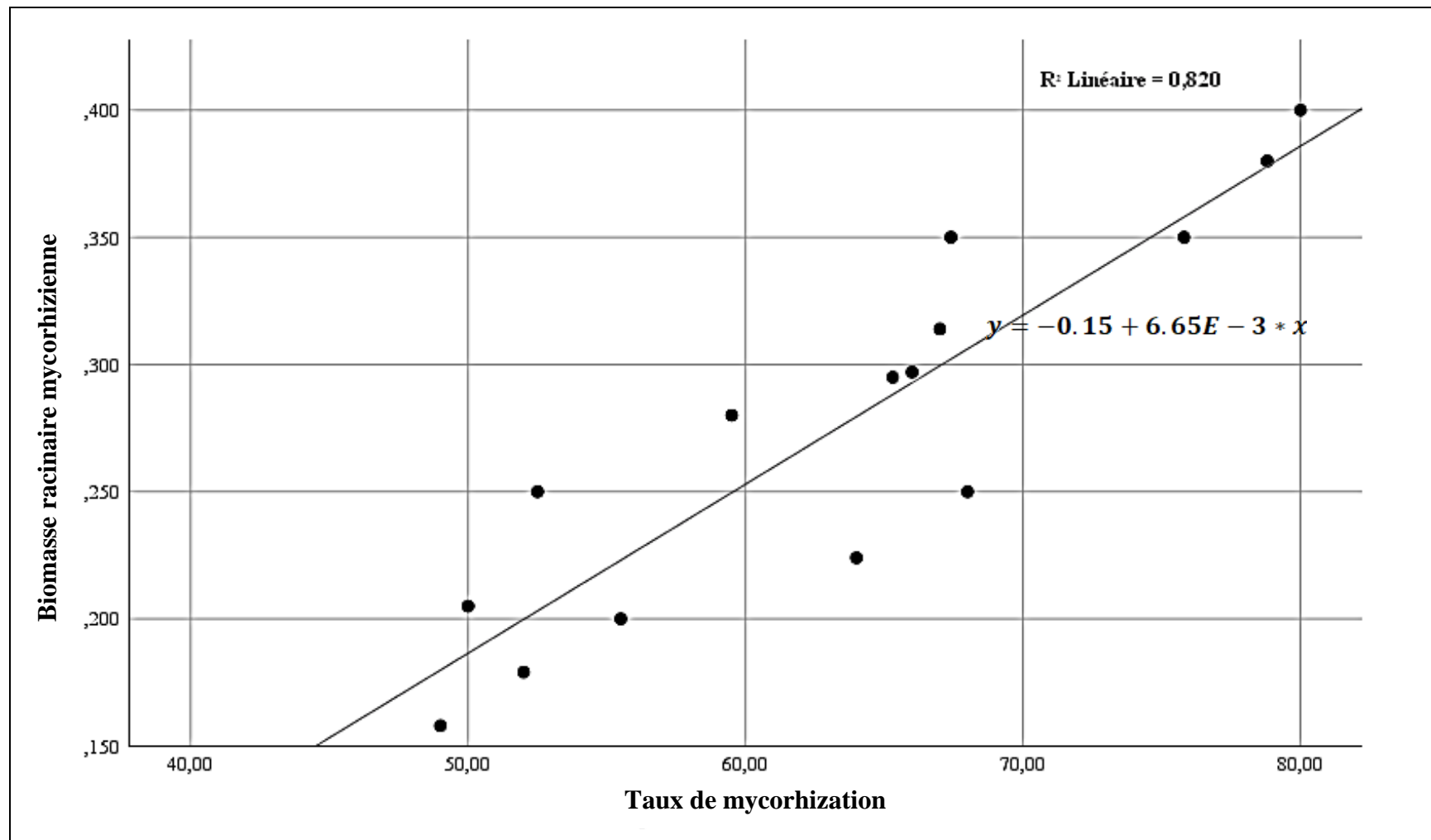


Figure 52. Corrélation linéaire entre la biomasse racinaire mycorhizienne et le taux de mycorhization des racines de *Pinus halepensis*

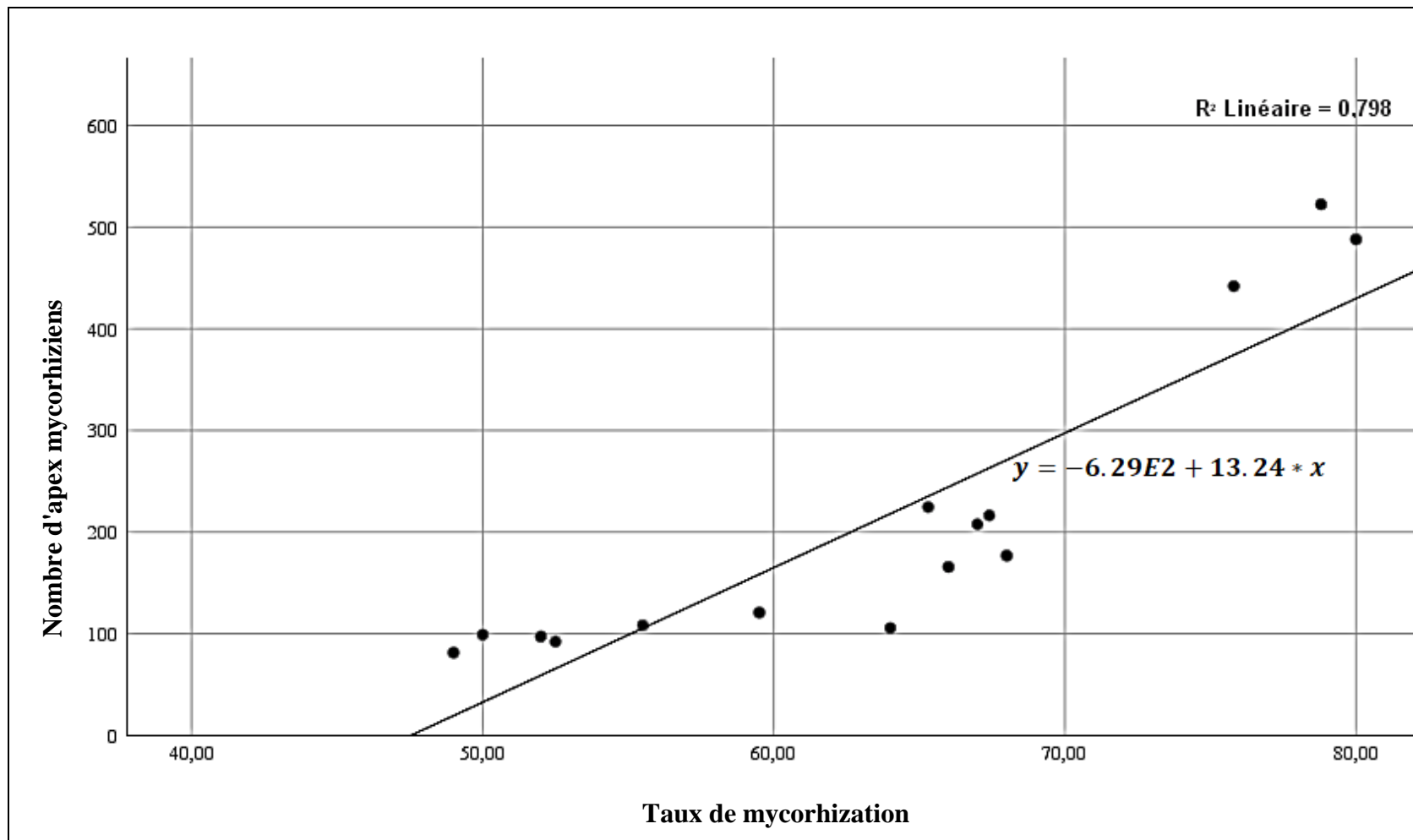


Figure 53. Corrélation linéaire entre le nombre d'apex mycorhiziens et le taux de mycorhization des racines de *Pinus halepensis*

VII Conclusion

Le caractère essentiel et pertinent des plantes phytorémediatrice était la survie et la croissance à différents niveaux de concentration des ETMs. Nos résultats ont clairement montré que *Pinus halepensis* pouvait supporter une forte proportion (75%) de ETMs du SMK. En plus, les différentes parties des plantules du *Pinus halepensis* mycorhizé (l'inoculation par le champignon *Scleroderma*) ont une biomasse et une taille plus élevées que celles du *Pinus halepensis* non mycorhizé. Nous pouvons considérer que l'inoculation par les CEMs est un moyen efficace qui aide la plante à supporter le stress métallique. En outre, la survie des plantules peut servir de base permettant probablement de renforcer l'idée de considérer *Pinus halepensis* inoculé avec le CEMs *Scleroderma* comme une phyto remediation pouvant être développée sur un sol contaminé. Nos futures investigations porteront sur la détermination des teneurs en métaux lourds dans les parties aériennes et racinaires des plantules. L'efficacité de la plante ciblée sous ce niveau élevé de contamination du sol étudié par les métaux lourds pourrait aider à comprendre les stratégies de phyto remediation adoptées par *Pinus halepensis* pour survivre dans ces environnements hautement pollués en présence et en l'absence du CEMs *Scleroderma*.

PARTIE 2 : ÉVALUATION DE L'ACCUMULATION DES ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES PAR *PINUS HALEPENSIS* INOCULÉ AVEC LE CHAMPIGNON ECTOMYCORHIZIEN *SCLERODERMA* ET DE LEUR POTENTIEL DE PHYTOREMÉDIATION

I Introduction

La décontamination durable de grandes zones polluées par les ETMs est un véritable challenge, parce que le coût des méthodes actuellement mises en application est trop élevé pour telles zones. Les techniques de phytoremédiation présentent généralement un bon rapport coût-efficacité pour réduire le déplacement des ETMs et leur propagation aux zones environnantes. L'application d'amendements du sol conjointement à l'inoculation de la couverture végétale par des CEMs dans le cadre de la phytoremédiation assistée augmente considérablement l'efficacité de cette technique. Cette dernière est basée notamment sur une utilisation des végétaux visant à permettre aux polluants de se stabiliser au niveau même de la rhizosphère afin de limiter le plus possible leurs transmissions au profit des filières vivrières.

A travers l'étude réalisée dans le troisième chapitre, nous avons mis en évidence la capacité des plantules de *Pinus halepensis* ayant été inoculées avec des spores en suspension de CEMs du genre *Scleroderma* à résister pendant une période allant jusqu'à six mois dans des conditions de stress métallique dans un substrat de culture (SMK / sable) qui se caractérise notamment par une forte pollution polymétallique susceptible d'atteindre un niveau de pollution de 75% (E. Ouatiki et al., 2022).

Afin de poursuivre la démarche entreprise précédemment et d'élucider les phénomènes qui se produisent dans la relation symbiotique entre la plante *Pinus halepensis* et le champignon *Scleroderma*, on a établi les principaux objectifs suivants

- Mesurer la concentration des ETMs dans les différentes parties de la plante ;
- Montrer la capacité de l'espèce *P. halepensis* à accumuler des ETM (Cu, Cd, Pb, Zn) ;
- Prouver l'utilité de couplage de l'inoculation par le champignon *Scleroderma* et l'amendement en sable.

II Effet de la symbiose ectomycorhizienne sur le pH, la CE, la COT et la teneur en nutriments de substrat de culture

Le *Tableau 12* présente les résultats obtenus des mesures du pH, de la CE et du COT de la partie rhizosphérique des différents taux de pollution étudiés après une période de six mois de culture.

Les valeurs obtenues du pH nous montrent que les résidus miniers étudiés (100%) dans les deux traitements NM et M sont très acides avec une valeur moyenne de pH de 2,06 et 2,34, respectivement, tandis que les valeurs obtenues du pH dans les traitements NM et M du sable sont neutres avec des valeurs moyennes de 6,44 et 7,65, respectivement. Le substrat de culture utilisé dans notre étude comme nous l'avons déjà mentionné précédemment est constitué de sol minier et de sable ; l'idée fondamentale de ce mélange étant de diminuer le taux élevé de constituant du sol minier ainsi que la modification de ces caractères physico-chimiques. En outre, le pH du sol minier a augmenté de 2,06 à 6,35- 6,58- 6,65- 6,77 dans le cas NM et à 7,23- 7,3- 7,31- 7,34 dans le cas M selon le taux de pollution de 10% - 25% - 50% et 75%, respectivement. Par conséquent, ces résultats montrent que l'ajout de différentes proportions de sable, riche en CaCO₃, aux résidus miniers a significativement ($p < 0,05$) fait augmenter les valeurs de pH dans les traitements NM et M. Ces résultats corroborent les conclusions trouvées par d'autres chercheurs qui ont mis en évidence les effets bénéfiques du carbonate de calcium sur les propriétés du sol, en particulier le pH (González et al., 2012; Tozsin et al., 2014).

La présence de champignons *Scleroderma* sur le substrat de culture comme source d'inoculation exerce une autre influence considérable sur les valeurs de pH. En effet, selon Guo et al. (2020), le pH du sol est un facteur crucial du fait de son influence significative sur la prolifération des CEMs ainsi que sur le métabolisme mycélien. De sa part, Manaut (2015) a remarqué que les valeurs de pH augmentent à chaque fois que la symbiose mycorhizienne s'établit. De leur côté, Olchowik et al. (2020) ont constaté que cette variation du pH du sol ne présente pas forcément un effet nocif sur les CEMs dont certaines espèces réagissent même de manière favorable à une forte acidité.

Nous avons également regroupé (*Tableau 12*) les différentes valeurs de la CE obtenue pour les différentes proportions de substrat de culture après six mois de culture pour les deux cas des traitements M et NM. D'après les résultats obtenus, on constate que les valeurs de CE ont tendance à augmenter avec l'accroissement du pourcentage de résidus miniers. Cette

constatation semble évidente du fait que le SMK comporte davantage d'ions que le sable (0%), ce qui explique que les valeurs de CE sont plus faibles, à savoir 108,5 et 157 $\mu\text{s} / \text{cm}$ pour les traitements NM et M, respectivement. Alors que la valeur de CE maximale obtenue dans le traitement M à 75% est de 1649 $\mu\text{s} / \text{cm}$ contre 1174 $\mu\text{s} / \text{cm}$ mesurée dans le traitement NM. En ce qui concerne les autres dilutions, les valeurs de CE pour le traitement M que pour celui NM sont plus fortes. La valeur de la CE la plus élevée a été enregistrée pour le traitement M à 75%, cette augmentation est due essentiellement à la concentration près des racines des plantules d'éléments dispersés dans la rhizosphère. En effet, cette accumulation est essentiellement liée à la présence d'hyphes fongiques, qui constituent une prolongation de la relation symbiotique ectomycorhizienne avec les racines des plantules de *P. halepensis* jouant essentiellement un rôle important dans l'absorption de l'eau et des nutriments, ainsi que les métaux (Becerra et al., 2005; Tang et al., 2019).

Le **Tableau 12** regroupe les résultats relatifs à la teneur du COT dans le sol rhizosphérique. Au vu de ces résultats on peut constater que les valeurs moyennes du COT augmentent en fonction de l'accroissement de la quantité de résidus miniers. On a pu observer de faibles valeurs de COT dans les pots avec le pourcentage de pollution 0% pour les traitements M (0,21%) et NM (0,10%), contrairement aux pourcentage de pollution 75% pour les traitements NM (1,06%) et M (0,86%) qui présentent les valeurs de COT les plus élevées. En ce qui concerne les taux de pollution 10% et 25%, le pourcentage de COT a montré une faible différence entre les deux traitements NM et M de 0,07% et 0,03% respectivement. Par ailleurs, le contenu en COT du sol est influencé également par la présence de CEMs (Lindahl & Tunlid, 2015) car les CMs, en plus de leur apporter du carbone issu de la photosynthèse à la plante hôte, ils agissent comme des saprophytes qui limitent leurs besoins en C en dégradant la matière organique. Cette diversité dans les sources de carbone est essentiellement dû à un plus fort apport d'énergie pour produire des enzymes afin d'attaquer les substrats riches en nutriments (Orwin et al., 2011). En revanche, le pourcentage de COT dans les pots avec un pourcentage de pollution 50% et 75% pour le traitement M est plus faible que pour le traitement NM, ceci est dû à la présence de CEMs qui deviennent plus actifs dans les conditions de stress métallique en vue de dégrader la MO du sol. Le pourcentage élevé du COT dans les pots avec un pourcentage de pollution 10% et 25% pour le traitement M, est lié non seulement aux débris racinaires mais aussi aux hyphes mycorhiziens.

Les Figures 54, 55, 56 et 57 présentent les résultats de la concentration des éléments P, Ca, S et K présents dans les différents pourcentage de substrat en fonction du taux de

pollution des résidus après six mois de culture. D'une façon générale, le champignon joue un rôle essentiel dans la relation symbiotique en fournissant à la plante hôte des éléments nutritifs et de l'eau. Par conséquent, leur concentration dans la partie rhizosphérique du sol indique clairement l'influence des CMs sur ces nutriments (P - Ca - K - S). En effet, on constate que la concentration maximale de nutriments enregistrée par le traitement NM dans les pots avec 0% de pollution est plus importante que celle enregistrée par le traitement M (2061-2661 mg/kg) pour le P, ainsi que pour Ca (15000-17700 mg/kg), S (777-947 mg/kg), et K (1475 - 2037 mg/kg). Nous soulignons également que les mêmes variations ont également été enregistrées pour les taux de pollution de 50% et 75%. Cependant, les pots avec les taux de pollution de 10% et 25% ont enregistré des concentrations de nutriments plus élevées pour le traitement M que pour celui NM.

En outre, selon de nombreuses études, sous des conditions de stress, la relation symbiotique mycorhizienne exerce une importante influence en matière de la protection contre les agents pathogènes ainsi qu'une meilleure résistance aux contraintes abiotiques (Bâ et al., 2011; Bano & Ashfaq, 2013; Seb & Ajungla, 2018). Par conséquent, on peut déduire que la diminution de la concentration en nutriments, dans le sol rhizosphérique dans les traitements mycorhiziens et également sous les conditions des stress métalliques (50% et 75%) et des stress hydriques (0%), est due essentiellement à l'action exercée par les hyphes des CMs dans l'absorption de l'eau et des nutriments. Dans ce contexte et selon les résultats obtenus, on peut conclure que les CEMs jouent un rôle primordial dans l'amélioration de l'absorption des nutriments minéraux pour de nombreuses espèces végétales (Gaba-chahboub et al., 2016; Li et al., 2019; Smith & Read, 1997).

Tableau 12. Variations du pH, CE et TOC rhizosphérique dans les traitements mycorhizés et non mycorhizés avec les différents taux de pollution des résidus de Kettara.

		0%	10%	25%	50%	75%	100%
pH	M	7,65±0,14 ^f	7,23±0,09 ^f	7,3±0,08 ^f	7,31±0,10 ^f	7,34±0,05 ^f	2,34±0,17 ^b
	NM	6,44±0,09 ^{c d}	6,35±0,12 ^c	6,58±0,24 ^{c d e}	6,65±0,20 ^{d e}	6,77±0,12 ^e	2,06±0,03 ^a
CE (µs/cm)	M	157±16,70 ^a	1225±35,00 ^e	1579±49,43 ^h	1631±24,27 ⁱ	1649±24,76 ⁱ	1360±21,07 ^g
	NM	108,5±10,21 ^a	944±22,00 ^b	1091±39,00 ^c	1150±35,00 ^d	1174±35,00 ^d	1300±20,00 ^f
COT (%)	M	0,21±0,00 ^{a b}	0,31±0,10 ^{b c d}	0,41±0,10 ^d	0,55±0,06 ^e	0,86±0,06 ^f	1,33±0,10 ^h
	NM	0,10±0,00 ^a	0,24±0,06 ^{a b c}	0,38±0,06 ^{c d}	0,82±0,10 ^f	1,06±0,06 ^g	1,30±0,06 ^h

Valeurs moyennes ± écart-type, n = 3. Des lettres différentes (a-h) indiquent des différences significatives (test de Student-Newman-Keuls, $p \leq 0,05$) entre les traitements.

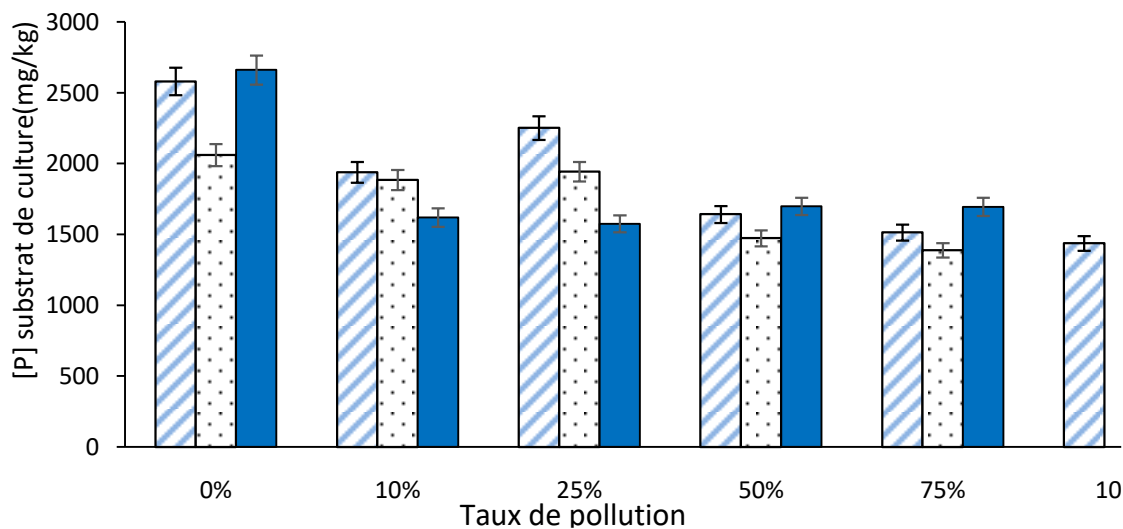


Figure 54. Moyenne et écart type des concentrations de phosphore dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)

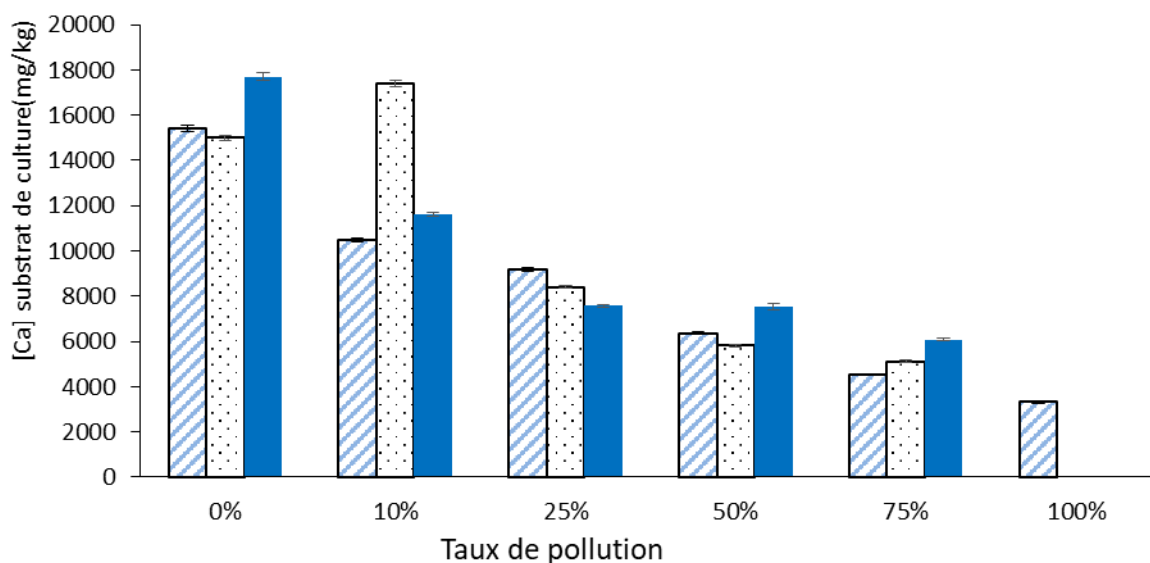


Figure 55. Moyenne et écart type des concentrations de calcium dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)

Avant (t0) et après six mois de culture (Mt6) (NMt6) en fonction de différent taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, n = 3 ; test Student-Newman-Keuls (p ≤ 0,05). Toutes les figures en dessous ont la même légende

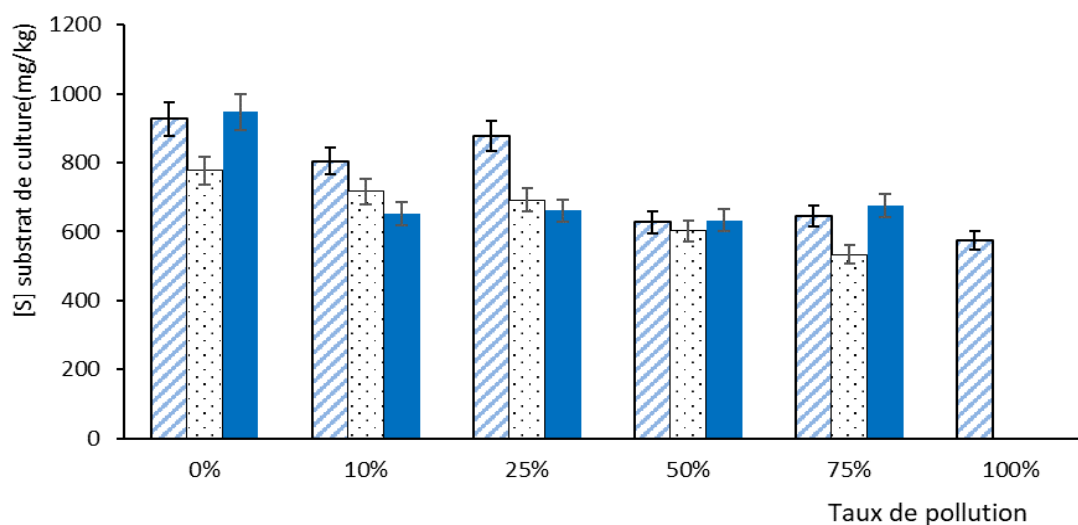


Figure 56. Moyenne et écart type des concentrations de soufre dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)

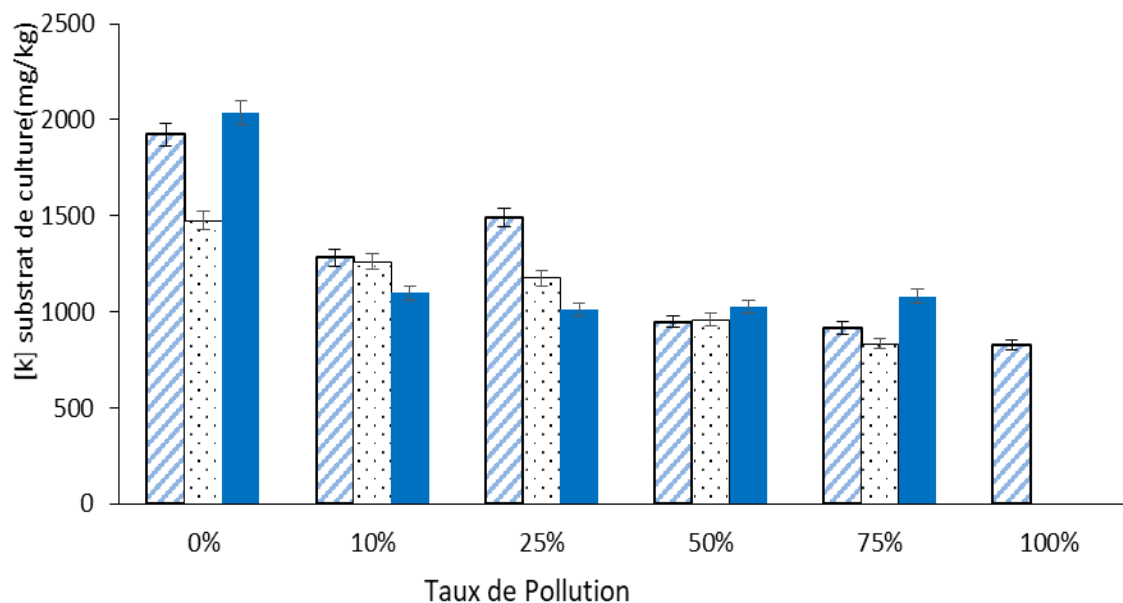





Figure 57. Moyenne et écart type des concentrations de de potassium dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)

Avant (t0)  et après six mois de culture (Mt6)  (NMt6)  en fonction de différent taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, n = 3 ; test Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$). Toutes les figures en dessous ont la même légende

III Effet de la mycorhization sur la teneur en ETMs

Les résultats des concentrations des ETMs (Zn, Cu, Pb) du substrat de culture en fonction du taux de pollution des résidus de SMK avant (t0) et après six mois de culture (t6) sont présentés dans les *figures 58, 59 et 60*.

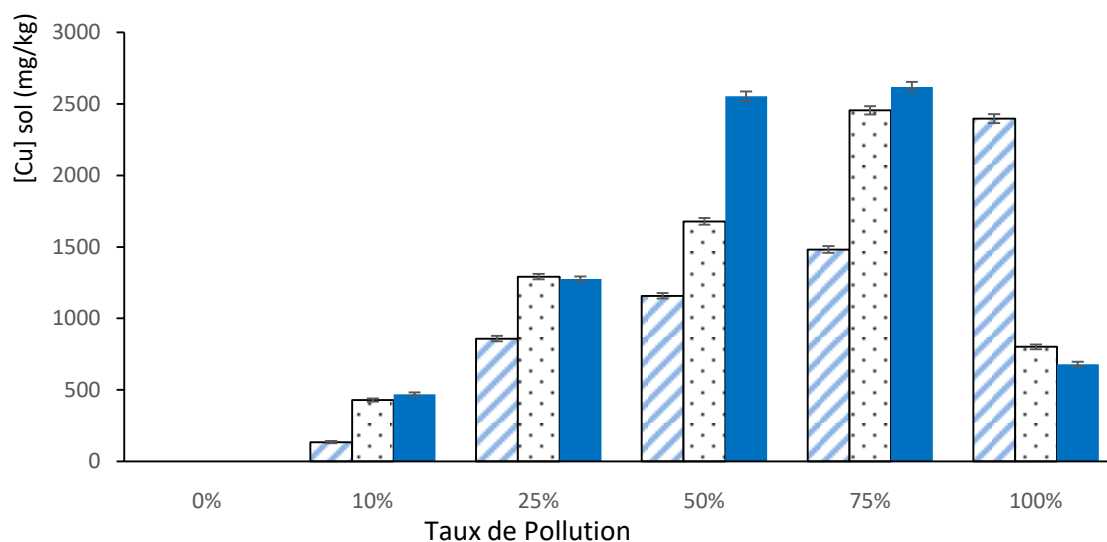


Figure 58. Concentrations de cuivre dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)

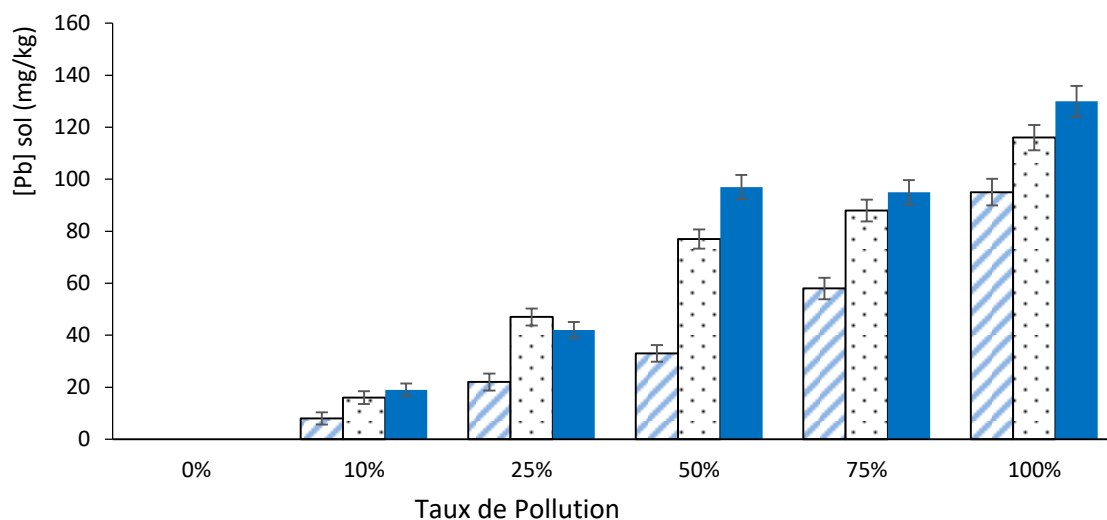





Figure 59. Concentrations de plomb dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)

Avant (t0)  et après six mois de culture (Mt6)  (NMt6)  en fonction de différent taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, n = 3 ; test Student-Newman-Keuls (p ≤ 0,05). Toutes les figures en dessous ont la même légende

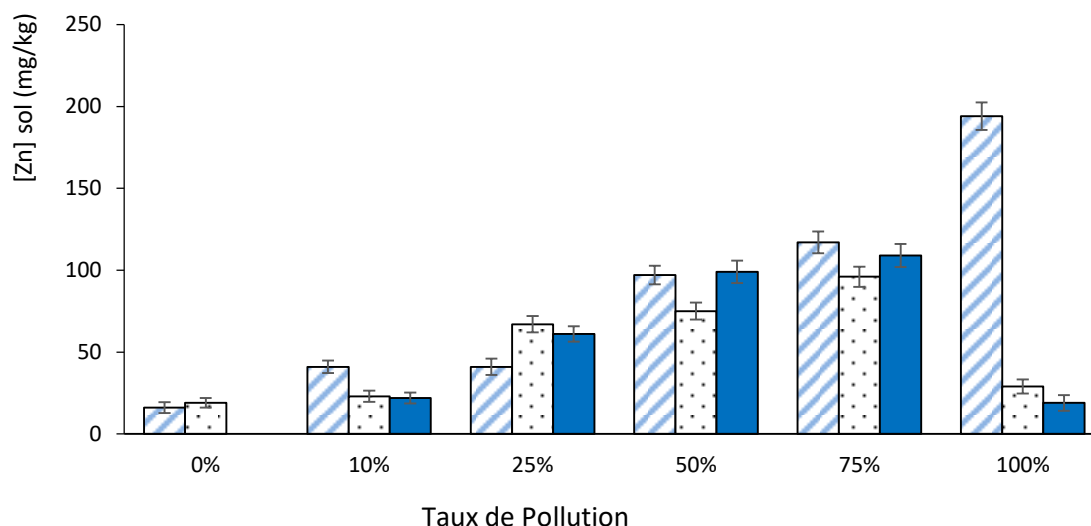





Figure 60. Concentrations de plomb dans les pots mycorhizés (M) et non mycorhizés (NM)

Avant (t0)  et après six mois de culture (Mt6)  (NMt6)  en fonction de différent taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, n = 3 ; test Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$). Toutes les figures en dessous ont la même légende

Premièrement, on constate que l'élément Cd est indétectable par les rayons X à cause de sa faible concentration. Par ailleurs, on constate qu'après six mois de culture, les concentrations des éléments Zn, Cu et Pb augmentent en fonction de la croissance du taux de résidus miniers. Les concentrations de ces ETMs sont particulièrement plus élevées aux taux de pollution de 50% et 75% dans le traitement NM que dans le traitement M. En revanche, dans le cas des taux de pollution de 10% et 25%, on observe une légère variation de la concentration en Zn, Cu et Pb lorsqu'on passe du traitement NM à celui M. En effet, on constate que la concentration de Cu et Pb à (t0), est toujours inférieure à celle obtenue après six mois de culture pour tous les pourcentages de pollution. En revanche, la concentration de l'élément Zn à (t0) reste plus élevée à (t6) pour les pourcentages de pollution de 10%, 50% et 75%, et cela parce que le sable est plus riche en Zn en comparaison avec Cu et Pb, conformément aux résultats présentés dans le *Tableau 12*. Cette variation peut être liée au mode d'accumulation de la plante vis-à-vis de ces éléments.

Bano et Ashfaq (2013) ont conclu que les plantes mycorhizées montraient une accumulation et une immobilisation élevées des ETMs. En plus, Johnson et al., (1997) ont montré que les plantes sous stress ont développé des relations de symbiose mycorhizienne plus que les plante dans un état normal. De leur coté, Yu et al (2020) ont rapporté que l'inoculation par des CEMs augmentait la capacité des plantes à absorber les ETMs au niveau du système racinaire.

IV Effet de la mycorhization sur l'accumulation des métaux dans les plantules de *Pinus halepensis*

L'idée générale de notre expérience est de faire évoluer des plantules de *Pinus halepensis* dans un environnement contaminé par des métaux lourds afin de réaliser la phytoremédiation de ce site. Nous avons procédé en première étape par la dilution du substrat de culture avec du sable pour diminuer suffisamment l'acidité du milieu puis les plantules ont été inoculées par des spores en suspension de champignon du genre *Scleroderma* pour assurer une relation symbiotique qui permettra essentiellement d'augmenter la surface d'échange des plantules. Enfin, des analyses chimiques ont été réalisées afin de déterminer la quantité d'ETM présente dans le sol, les PR et PA des plantules.

La **Figure 61** montre la variation de la concentration de Pb dans les PRs des plantules en fonction du pourcentage de pollution. D'après ces résultats, on constate que la concentration en Pb augmente avec le niveau de pollution. La valeur minimale est enregistrée pour un niveau de pollution de 0% et la valeur maximale est obtenue pour un niveau de pollution de 75%. Il faut noter que les racines des plantes M présentent des concentrations en Pb plus élevées que celles des plantes NM pour tous les taux de pollution avec une différence de 0,2- 0,2- 7,63- 24,50- 6 mg / kg respectivement pour les taux de pollution 0%- 10%- 25%- 50%- 75%. De plus, on note que le taux de pollution de 100% n'est pas pris en compte car les plantules ne peuvent pas se développer à cause du stress causé par les fortes concentrations en ETMs.

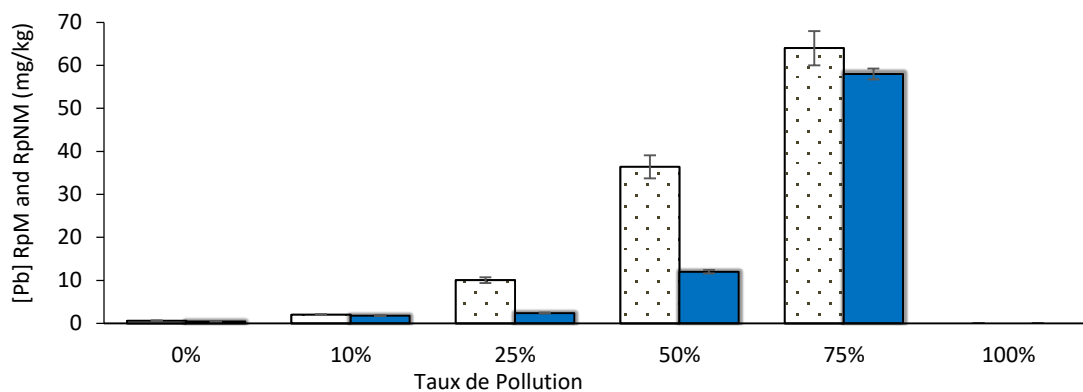




Figure 61. Concentration en plomb, dans les parties racinaires

de plantules mycorhiziennes (M)  et non mycorhiziennes (NM)  cultivées dans différents taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, $n=3$ (test de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$))

Contrairement aux concentrations de Pb obtenues dans les PRs, les résultats de la **Figure 62** montrent que celles de la PA des plantules NM ont enregistré des valeurs plus élevées que celles enregistrées dans les plantules M avec une différence de 1,00- 3,07- 8,20- 7,80- 0,00 mg/kg pour les taux de pollution 0%, 10%, 25%, 50%, 75% respectivement.

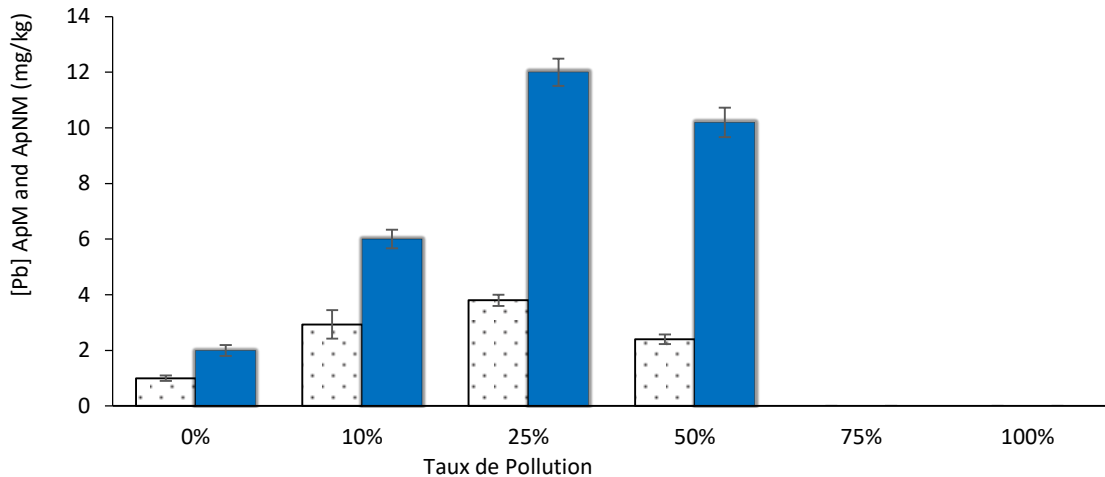




Figure 62. Concentration en plomb dans les parties aériennes

de plantules mycorhiziennes (M)  et non mycorhiziennes (NM)  cultivées dans différents taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, $n=3$ (test de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$))

Le niveau élevé de concentration de Pb égal à 64 mg/kg dans les PRs des plantules M au taux de pollution de 75% montre que les hyphes fongiques absorbent le Pb et le stockent dans les hyphes fongiques externes qui caractérisent les ectomycorhizes. De plus, la faible dose de Pb dans les PA reflète l'action de cette couche fongique qui entoure les racines des plantes hôtes et agit comme une barrière contre l'élément Pb présent une concentration élevée.

Les résultats obtenus lors de la détermination de la concentration en cuivre dans la PR et dans la PA (**Figure 63** et **Figure 64**) montrent qu'il n'y a pas de corrélation entre les deux parties. Par ailleurs, la faible valeur de la concentration en cuivre est de 14 mg/kg pour le traitement M à un pourcentage de pollution de 25% tandis que la valeur maximale est de 345 mg/kg pour le traitement NM à un pourcentage de pollution de 50%. Pour les autres pourcentages de pollution, les concentrations en cuivre dans les parties racinaires des traitements M, pour un pourcentage de pollution de 0% et 10%, sont plus élevées que celles de NM avec une différence de 231,40 et 133,83 mg/kg respectivement. D'autre part, les traitements M pour les taux de pollution 25%, 50% et 75% présentent des doses de cuivre inférieures à celles de NM avec une différence de 2,8 - 2 et 51,2 mg/kg respectivement.

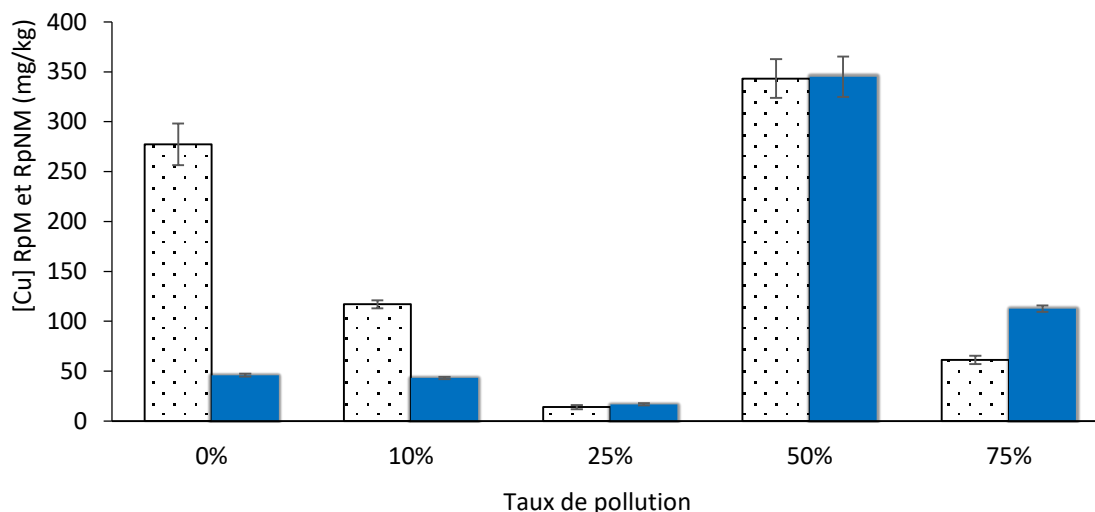


Figure 63. Concentration en cuivre dans les parties racinaires

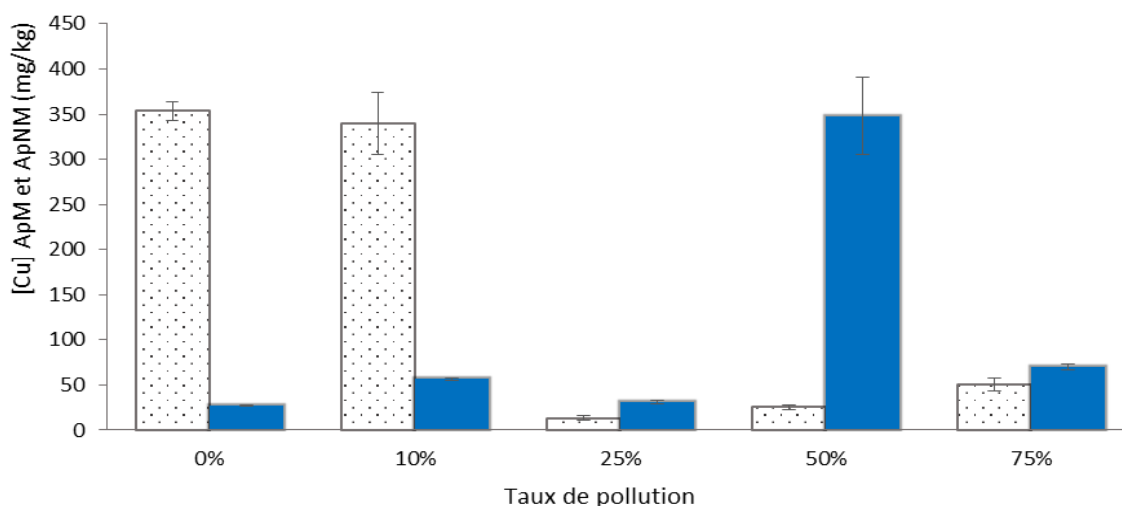




Figure 64. Concentration en cuivre dans les parties aériennes

de plantules mycorhiziennes (M)  et non mycorhiziennes (NM)  cultivées dans différents taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, $n=3$ (test de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$))

De plus, les résultats obtenus pour la PA suivent le même schéma que ceux enregistrés dans la PR. Nous pouvons en déduire que les hyphes mycorhiziens agissent comme une barrière lorsque la concentration en cuivre est élevée dans le milieu, ce qui explique sa faible présence dans les traitements M pour les taux de pollution 25%, 50% et 75% pour les deux parties de plantules.

La **Figure 65** montre la variation de la concentration en cadmium dans la partie racinaire de plantules étudiées en fonction du pourcentage de la pollution. Ces résultats indiquent que les plantules *P. halepensis* ont la capacité d'absorber cet élément même en petites quantités et surtout pour les plantules M car nous avons trouvé des valeurs plus élevées que celles NM (2 ; 1,8) mg/kg, (2,4 ; 2,2) mg/kg, (4,2 ; 1,8) mg/kg et (2,8 ; 1,8) mg/kg pour les taux de pollution 10%, 25%, 50% et 75% respectivement. La **Figure 66** indique les résultats de la détermination du cadmium dans la partie aérienne. En effet, d'après ces résultats on peut déduire que les plantules M absorbent mieux l'élément Cd (1,4-1,4) mg/kg, (4,6- 4) mg/kg, (1,6-0) mg/kg, (1,88-1,6) mg/kg et (19,6-11,4) mg/kg que les plantules NM pour tous les niveaux de pollution respectivement.

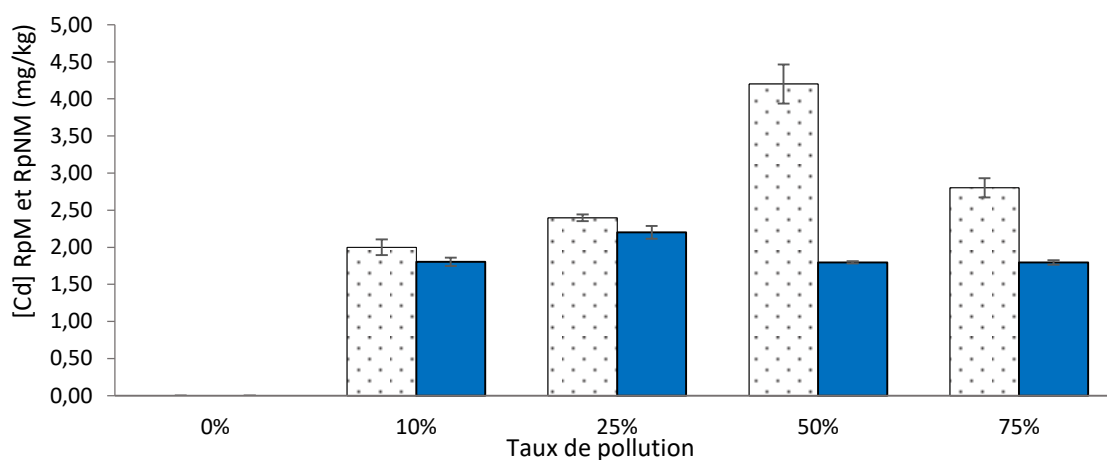




Figure 65. Concentration en cadmium dans les parties racinaires de plantules mycorhiziennes (M)  et non mycorhiziennes (NM)  cultivées dans différents taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, $n=3$ (test de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$))

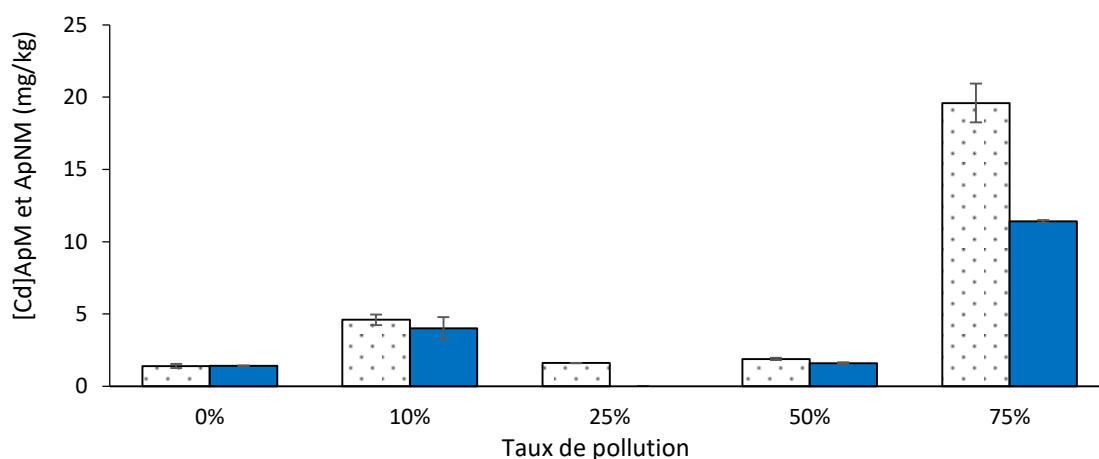




Figure 66. Concentration en cadmium dans les parties aériennes de plantules mycorhiziennes (M)  et non mycorhiziennes (NM)  cultivées dans différents taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, $n=3$ (test de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$))

Pour les valeurs des concentrations de l'élément Zn dans les PRs et PAs des plantules de *Pinus halepensis* trouvées après leur analyse en fonction du pourcentage de pollution, ces résultats sont illustrés dans la **Figure 67** et la **Figure 68** respectivement.

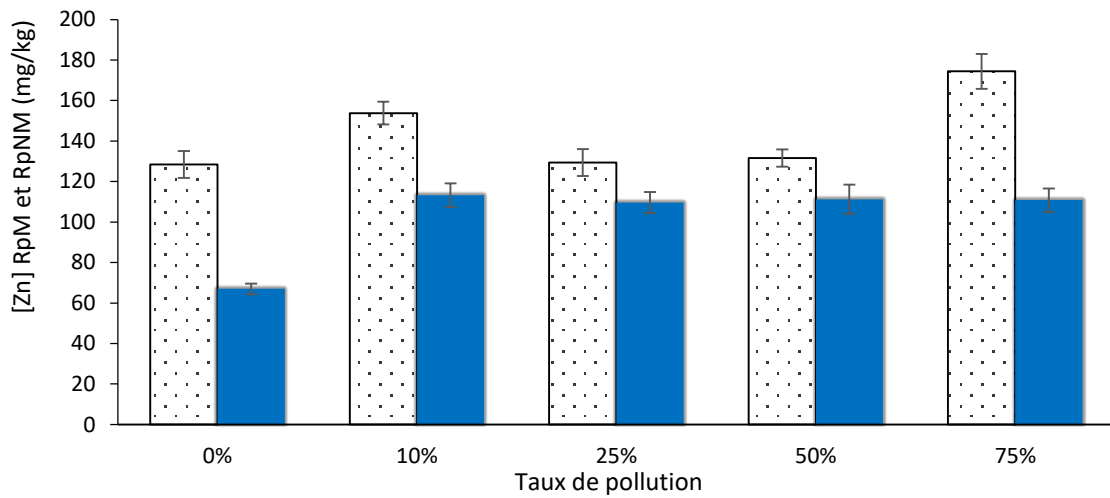




Figure 67. Concentration en zinc dans les parties racinaires

de plantules mycorhiziennes (M)  et non mycorhiziennes (NM)  cultivées dans différents taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, n=3 (test de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$))

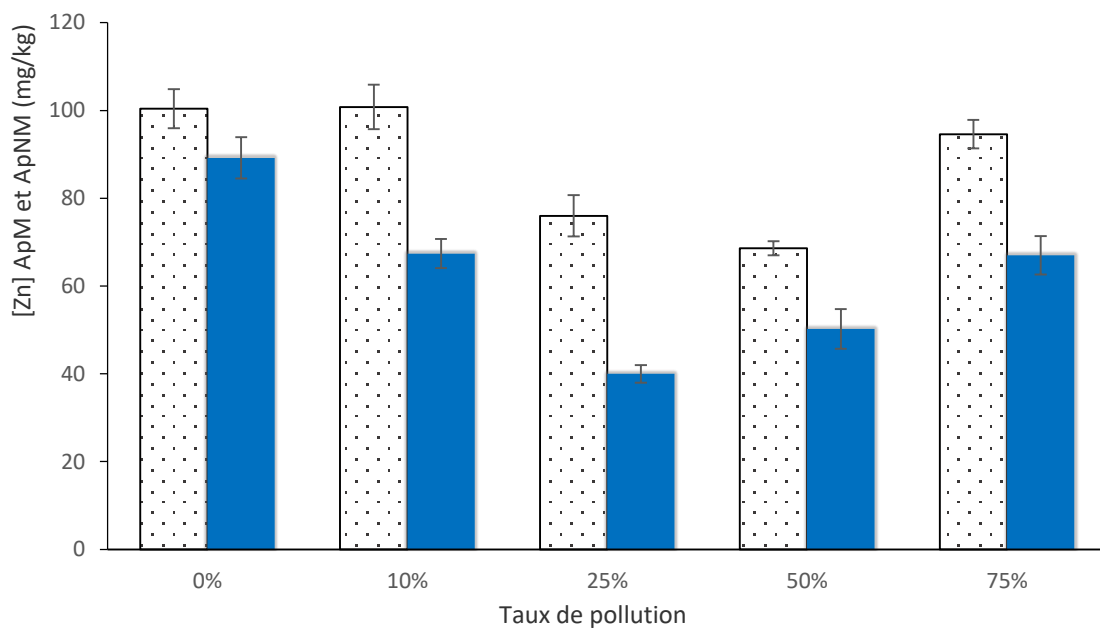




Figure 68. Concentration en zinc dans les parties aériennes

de plantules mycorhiziennes (M)  et non mycorhiziennes (NM)  cultivées dans différents taux de pollution du SMK. Toutes les données présentent les valeurs moyennes, n=3 (test de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$))

En effet, d'après l'analyse des résultats figuré ci-dessous, on constate que, la concentration de cadmium dans les deux parties de plantules qui ont subi des traitements M est plus élevée que ceux NM, dans tous les pourcentages de pollution.

V Effet de la mycorhisation sur l'efficacité de la phytoremédiation

Le couplage de la dilution du milieu de croissance par l'ajout du sable neutre et l'inoculation des plantules *P.halepensis* avec des spores de champignons scleroderma en suspension à permis au plantules en question de résister à la contamination du SMK, notamment par les ETMs.

Par ailleurs, il a été déjà prouvé que la plante hôte agit envers les polluants de façons différentes selon leur type. En effet, cette action suit différents mécanismes; l'inhibition de l'absorption, l'inhibition du transport, l'immobilisation ... etc (Bano & Ashfaq, 2013). Tang et al. (2019) ont montré que les CEMs favorisent également l'absorption des ETMs notamment le Cu et le Cd par une plante hôte *Pinus thunbergii*. En plus, Colpaert & Assche, (1992) ont prouvé, de leurs part, que la plante *P. sylvestris* inoculé avec un certain nombre d'espèces mycorhiziennes à des niveaux inférieurs de concentration en Cd et Zn est capable d'héberger ces éléments dans ses aiguilles. Ce résultat a été confirmé par Liu et al. (2020) qui ont montré que l'inoculation par *P. sylvestris* présente une meilleure tolérance et une plus grande accumulation des ETMs, notamment vis-à-vis de l'élément zinc.

VI Facteurs de bioaccumulation et de translocation du Zn, Pb, Cu

Nous rappelons ici que les facteurs FT et le FB sont utilisés essentiellement pour estimer, à la fois, l'efficacité d'accumulation des métaux dans les plantes et le potentiel des plantes pour la phytoextraction et / ou la phytostabilisation (Hazrat et al., 2013). La **Figure 69** et la **Figure 70** montrent la variation du FT et la **Figure 71** et la **Figure 72** du FB pour les traitements M et NM respectivement pour Zn, Cu et Pb en fonction du taux de pollution des résidus miniers de Kettara. Dans la présente étude, les valeurs de FT et de FB variaient en fonction de la concentration du métal lourd et de l'inoculation de *P. halepensis*. Pour la plupart des espèces végétales étudiées, les valeurs du facteur de transfert sont supérieures à l'unité ($FT > 1$) indiquant que ces plantes ont la capacité de transférer les métaux de leurs racines vers leurs pousses et ont donc le potentiel d'être utilisées en phytoextraction (V. C. Pandey & Bajpai, 2019; Rodriguez et al., 2012). En revanche, si les valeurs du facteur de

transfert sont inférieures à l'unité ($FT < 1$) il n'y a pas en effet de translocation des contaminants des racines des plantes vers les pousses, ces plantes peuvent donc être utilisées en phytostabilisation (Meeinkurt et al., 2016; J. Pandey et al., 2015; Yang et al., 2014).

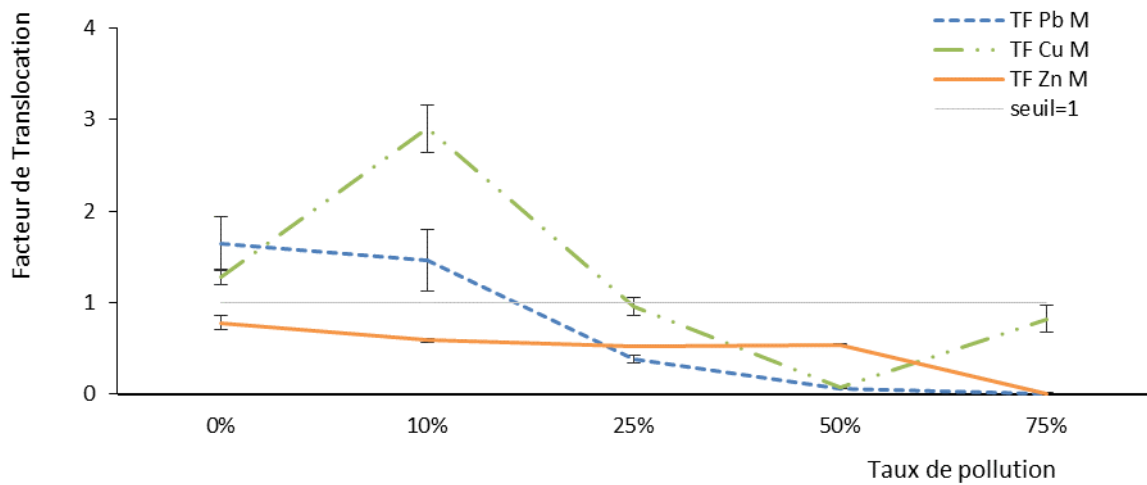


Figure 69. Facteur de translocation (FT) de Cu, Zn, Pb des plantules mycorhiziennes de *P.halepensis* cultivées dans différents taux de pollution du SMK.

Toutes les données présentent les valeurs moyennes, n = 3 (test de Student-Newman-Keuls($p \leq 0,05$))

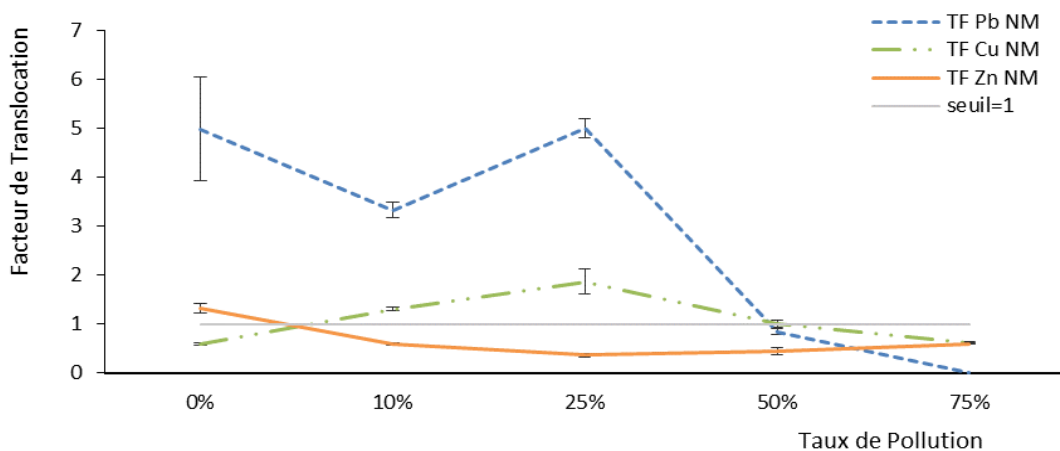


Figure 70. Facteur de translocation (FT) de Cu, Zn, Pb des plantules non mycorhiziennes de *P.halepensis* cultivées dans différents taux de pollution du SMK.

Toutes les données présentent les valeurs moyennes, n = 3 (test de Student-Newman-Keuls($p \leq 0,05$))

Nos résultats montrent que le facteur de transfert a des valeurs inférieures à l'unité dans les traitements mycorhiziens (25%, 50%, 75%) pour tous les métaux étudiés. Pour l'élément Zn nous constatons que les valeurs du facteur de transfert sont inférieures à l'unité ($FT < 1$) dans tous les taux de pollution. Ce résultat est similaire à celui obtenu dans les traitements non mycorhiziens 50% et 75%. Les valeurs du facteur de transfert supérieures à l'unité ($FT > 1$) sont obtenues dans le taux de pollution 0%(Pb, Cu) et 10% (Pb, Cu)

(M) *Figure 71*) et 0% (Pb), 10% (Pb et Cu) et 25% (Pb et Cu) pour le traitement NM la *Figure 70*. D'après les *Figure 71* et *Figure 72*, les valeurs du facteur de bioaccumulation supérieures à l'unité ($FB > 1$) sont observées pour Zn dans tous les taux de pollution dans les traitements M et NM et pour le $FB < 1$ on l'observe dans Pb et Cu dans les traitements M et NM.

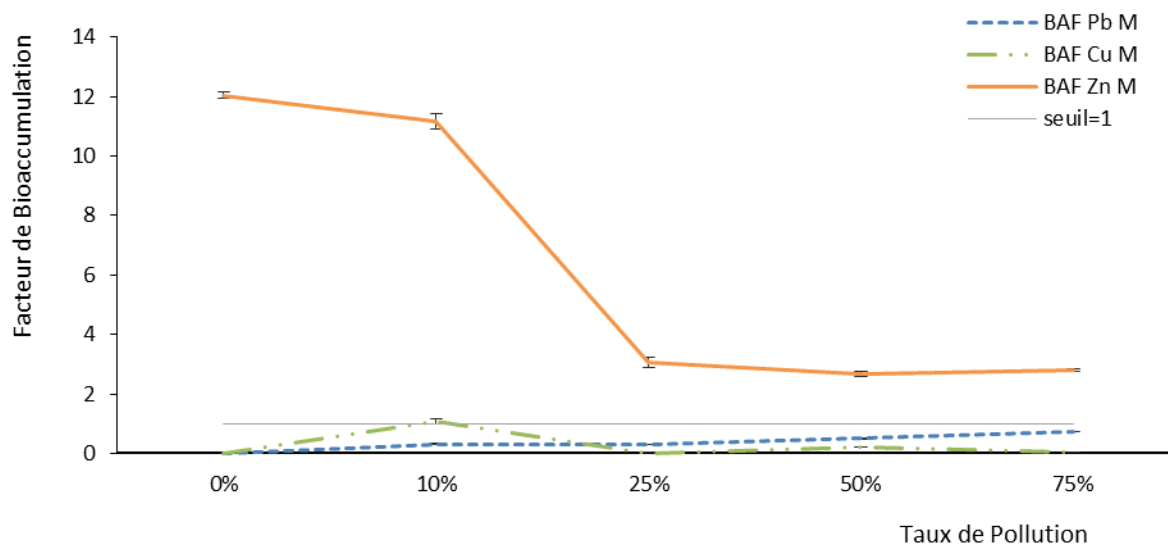


Figure 71. Facteur de bioaccumulation (FB) de Cu, Zn, Pb des plantules mycorhiziennes

Toutes les données présentent les valeurs moyennes, n = 3 (test de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$))

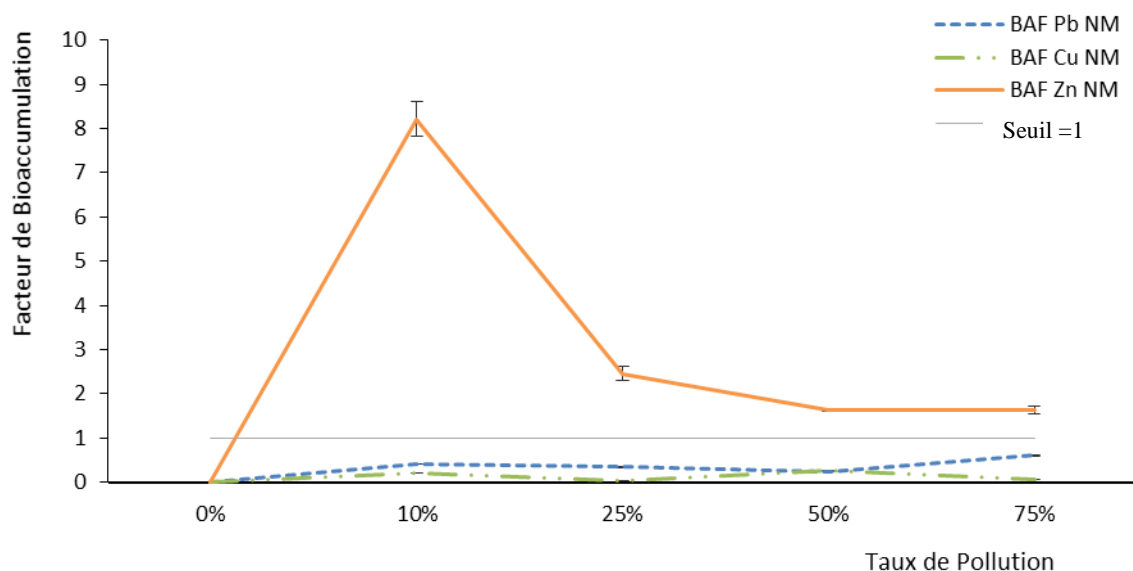


Figure 72. Facteur de bioaccumulation (FB) de Cu, Zn, Pb des plantules non mycorhiziennes

Toutes les données présentent les valeurs moyennes, n = 3 (test de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$))

VII Conclusion

À l'issus de la présente étude, nous pouvons conclure que la combinaison symbiotique des plantules de *P. halepensis* avec le CEMs *Scleroderma* planté dans un substrat contenant différentes proportions de résidus miniers mélangés avec du sable comme amendement, rend cette plante hôte capable de vivre sous stress métallique dans un milieu de culture contenant du SMK et des sols riches en carbonate de calcium (sable). Les résultats des cultures sous serre montrent que *P. halepensis* pourrait survivre à un taux de pollution allant jusqu'à 75%. De plus, l'inoculation donne aux plantules le pouvoir d'accumuler plus de nutriments et certains ETMs tels que Zn, Cu, Pb et Cd. Il a été également prouvé que la présence du sable comme amendement permet de modifier les caractéristiques physico-chimiques du milieu rhizosphérique, en particulier l'augmentation du pH. En conjonction avec les concentrations élevées en ETMs dans la racine de cette plante hôte, les valeurs de facteur de transfert inférieures à l'unité ($FT < 1$) et celles du facteur de bioaccumulation supérieures à l'unité ($FB > 1$) suggèrent que *P. halepensis* peut être classé comme une espèce végétale appropriée pour la phytoextraction / phytostabilisation des sites miniers polymétalliques.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Conclusion générale

Aujourd'hui tous les pays du monde souffrent des perturbations de l'environnement causées essentiellement par différentes activités anthropiques. Le majeur problème de ce désordre est dû à la pollution de la nature par les ETMs qui proviennent des activités minières et qui sont dispersés dans l'environnement sans aucun traitement préalable. Pour faire face à la dissémination des ETMs, notre choix s'est porté sur l'utilisation de la phytoremédiation qui est considérée comme une solution innovante, moins coûteuse et plus respectueuse de l'environnement que les traitements chimiques et thermiques. Cette technique se base essentiellement sur l'interaction des plantes avec les microorganismes vivants dans sa rhizosphère. Dans ce contexte, la raison de notre étude est l'évaluation du potentiel de *Pinus halepensis* à effectuer la phytoremédiation et augmenter son efficacité par l'adjonction de deux composantes essentielles: i) l'amendement avec du sable, ii) l'inoculation des plantules par des CEMs. Grâce à la démarche scientifique entreprise dans cette étude, nous avons pu prouver que ces outils renforcent la phytoremédiation, qui s'avère être une approche alternative plus prometteuse pour la réhabilitation des sols contaminés, que les techniques physico-chimiques.

La première partie de notre travail de recherche a porté sur l'échantillonnage des sols du site d'étude et également sur l'échantillonnage des fructifications du champignon *Scleroderma* utilisé pour l'inoculation des plants de pin d'Alep. Par la suite, les graines de *Pinus halepensis* ont pu germer et se développer dans le milieu de culture obtenu en diluant le sol contaminé de la MK avec différentes proportions de sable neutre. Quelques jours après, une partie des plantules obtenues a été inoculée par une suspension de spores du champignon de genre *Scleroderma*. Après six mois de culture, nous avons constaté que les plantules de l'espèce *Pinus halepensis* peuvent survivre dans des conditions de stress métallique atteignant un taux de pollution de 75%. Les résultats des mesures de la biomasse et de la taille des plantules nous ont permis d'établir la relation symbiotique (ectomycorhize) réussie entre *Pinus halepensis* et les spores du champignon de genre *Scleroderma* dans les sols contaminés de la MK dilués dans des sables neutres. Ces résultats ont montré également que la biomasse et la taille des plantules les plus importants sont obtenues avec *Pinus halepensis* inoculé avec les spores du champignon de genre *Scleroderma*.

La deuxième partie de notre étude s'est intéressée, en premier lieu, à démontrer que les résultats obtenus dans la première partie sont effectivement dus à l'ectomycorhize. En effet, l'observation stéréoscopique a permis, d'une part, de détecter divers morphotypes des apex

ectomycorhiziens (coralloïde- dichotomique- irrégulièrement pennée) et, d'autre part, de déterminer le nombre des apex mycorhizés et non mycorhizés qui a permis de calculer le pourcentage des CEMs. Nos résultats ont montré que ce pourcentage peut atteindre 50% dans le cas de la plante mycorhizée dans le sol contaminé dilué à 75%, cela est dû en grande partie à la présence du sable comme amendement. De plus, les observations en microscopie optique ont confirmé la bonne implantation de l'ectomycorhize par la présence des principaux composants des CEMs tels que le manteau fongique, les hyphes mycélium et le réseau de Hartig.

La dernière partie de la thèse a visé non seulement à quantifier les ETMs dans les deux parties de la plante (parties aériennes et racines) six mois après la plantation, mais aussi dans le substrat de culture avant et six mois après la plantation. Les analyses réalisées par fluorescence des Rayons X pour le substrat de culture et par spectrométrie d'absorption atomique pour la matière végétale nous ont permis de doser les ETMs accumulés. Les résultats de toutes ces mesures ont montré que les plantules de *Pinus halepensis*, en particulier leurs parties racinaires, peuvent accumuler des quantités significatives d'ETMs ($p < 0,05$), notamment le Zn à tous les niveaux de pollution et pour le Cu et le Pb à des taux de pollution de 25%, 50% et 75%. En plus, les résultats des calculs ont montré que les valeurs du facteur de transfert sont inférieures à l'unité ($FT < 1$) et celles du facteur de bioaccumulation sont supérieures à l'unité ($FB > 1$) ce qui suggère que *P. halepensis* peut être classée comme une espèce végétale appropriée pour la phytoextraction / phytostabilisation des sites miniers polymétalliques.

L'inoculation de la plante *Pinus halepensis* par une suspension de spores du CEMs de genre *Scleroderma* et l'ajout du sable comme amendements au substrat de culture dans le traitement d'une pollution polymétallique permettra donc de limiter la toxicité de l'ensemble des polluants métalliques et métalloïdes présents dans un sol pollué comme celui de la mine Kettara.

Perspectives

Les résultats obtenus permettent de suggérer quelques propositions et recommandations opérationnelles afin d'aboutir à une gestion durable des sites miniers contaminés :

- Le suivi de l'évolution de l'espèce *Pinus halepensis* in situ avec les mêmes traitements.
- Une étude poussée sur le taux des ETMs dans les différents constituants de plantes et le sol.
- La recherche des nouveaux couples d'espèces végétales et d'espèces de CEMs aptes à être utilisées dans la phytoremédiation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abhilash, P. C., Pandey, V. C., Srivastava, P., Rakesh, P. S., Chandran, S., Singh, N., & Thomas, A. P. (2009). Phytofiltration of cadmium from water by *Limnocharis flava* (L.) Buchenau grown in free-floating culture system. *Journal of Hazardous Materials*, 170(2–3), 791–797. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.05.035>
- Adriano, D. C. (1986). Trace Elements in the Terrestrial Environment. In *Journal of the Royal Society of Medicine* (Vol. 62, Issue 12). <https://doi.org/10.1177/003591576906201244>
- Adriano, Domy C. (2001). *Trace Elements in Terrestrial Environments*. <https://doi.org/10.2134/jeq2002.3740>
- Agarwal, P., Sarkar, M., Chakraborty, B., & Banerjee, T. (2018). Phytoremediation of Air Pollutants: Prospects and Challenges. In *Phytomanagement of Polluted Sites: Market Opportunities in Sustainable Phytoremediation* (pp. 221–241). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813912-7.00007-7>
- Agerer, R. (1995). Anatomical Characteristics of Identified Ectomycorrhizas: An Attempt Towards a Natural Classification. *Mycorrhiza*, 685–734. https://doi.org/10.1007/978-3-662-08897-5_29
- Ahmadpour, P., Ahmadpour, F., Mahmud, T. M. M., Abdu, A., Soleimani, M., & Tayefeh, F. H. (2012). Phytoremediation of heavy metals: A green technology. *African Journal of Biotechnology*, 11(76), 14036–14043. <https://doi.org/10.5897/ajb12.459>
- Akema, T., & Futai, K. (2005). Ectomycorrhizal development in a *Pinus thunbergii* stand in relation to location on a slope and effect on tree mortality from pine wilt disease. *Journal of Forest Research*, 10(2), 93–99. <https://doi.org/10.1007/s10310-004-0101-3>
- Al-Karaki, G. N., & Clark, R. B. (1998). Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. *Journal of Plant Nutrition*, 21(2), 263–276. <https://doi.org/10.1080/01904169809365401>
- Alam, A., & Sharma, V. (2019). Heavy Metal Management-A Phytoremediation Perspective. *Current Environmental Engineering*, 6(1), 6–9.
- Alina Kabata-Pendias. (1992). *Trace Elements in Soils and Plants*.
- Alloway, B. J. (1995). *Heavy Metals in Soils*. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London,.
- An, P. C., Tang, D. L., Chen, H., Yang, Q., Ding, S. T., & Wu, J. Y. (2018). Pliocene white pine (*Pinus* subgenus *Strobus*) needles from western Yunnan, southwestern China. *Historical Biology*, 31(10), 1412–1422. <https://doi.org/10.1080/08912963.2018.1461216>
- Aubert, G. (1978). Methods of soil analysis. In *G.R.D.P, Marseille* (p. 191).
- Aude. (2009). *n*.
- Bâ, A., Duponnois, R., Diabaté, M., & Dreyfus, B. (2011). Les champignons ectomycorhiziens des arbres forestiers en Afrique de l’Ouest: Méthodes d’étude, diversité, écologie, utilisation en foresterie et comestibilité. In *IRD Editions* (IRD, p. 252).
- Baize, D. (2009). Éléments traces dans les sols Fonds géochimiques, fonds pédogéochimiques naturels et teneurs agricoles habituelles: définitions et utilités. *Courrier de l’environnement de l’INRA*, 57, 63–72.

- Baker, A. J. M., & Walker, P. L. (1989). Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 1(1), 7–17. <https://doi.org/10.1080/09542299.1989.11083102>
- Bano, S. A., & Ashfaq, D. (2013). Role of mycorrhiza to reduce heavy metal stress. *Natural Science*, 5(12), 16–20.
- Barman, J., Samanta, A., Saha, B., & Datta, S. (2016). Mycorrhiza The Oldest Association Between Plant and Fungi. *Resonance*, 21(12), 1093–1104. <https://doi.org/10.1007/s12045-016-0421-6>
- Becerra, A., Pritsch, K., Arrigo, N., Palma, M., & Bartoloni, N. (2005). Ectomycorrhizal colonization of *Alnus acuminata* Kunth in northwestern Argentina in relation to season and soil parameters. *Annals of Forest Science*, 62, 325–332. <https://doi.org/10.1051/forest>
- Beimforde, C., Schäfer, N., Dörfelt, H., Nascimbene, P. C., Singh, H., Heinrichs, J., Reitner, J., Rana, R. S., & Schmidt, A. R. (2011). Ectomycorrhizas from a Lower Eocene angiosperm forest. *New Phytologist*, 192(4), 988–996. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03868.x>
- Belkessam, L., & Lemièrre, B. (2006). *Stratégie et technique d'échantillonnage des sols pour l'évaluation des pollutions*.
- Bellefontaine, R., & Raggabi, M. (1977). Contribution à l'étude Des Pins de La Section Halepensis Au Maroc: Considérations Générales et Essai International de provenances. *Annales de La Recherche Forestière Au Maroc*, 17, 191–233.
- Beltayef, H., Melki, M., Saidi, W., Hajri, R., Cruz, C., Muscolo, A., & ben Youness, M. (2020). Potential *Piriformospora indica* effect on growth and mineral nutrition of *Phaseolus vulgaris* crop under low phosphorus intake. *Journal of Plant Nutrition*, 0(0), 1–10. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1845366>
- Benabid, A. (2000). Flore et écosystèmes du Maroc Évaluation et préservation de la biodiversité. In *ibis press*.
- Benidire, L., Pereira, S. I. A., Castro, P. M. L., & Boularbah, A. (2016). Assessment of plant growth promoting bacterial populations in the rhizosphere of metallophytes from the Kettara mine, Marrakech. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 21751–21765. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7378-6>
- Bilgo, A., Sangare, S. K., Thioulouse, J., Prin, Y., Hien, V., Galiana, A., Baudoin, E., Hafidi, M., Bâ, A. M., & Duponnois, R. (2012). Response of native soil microbial functions to the controlled mycorrhization of an exotic tree legume, *Acacia holosericea* in a Sahelian ecosystem. *Mycorrhiza*, 22(3), 175–187.
- Blaylock, M. (2008). Phytoremediation of Contaminated Soil and Water: Field Demonstration of Phytoremediation of Lead Contaminated Soils. *Boca Raton, FL: Lewis Publishers*;
- Botton, B., & Chalot, M. (1999). Nitrogen Assimilation : Enzymology in Ectomycorrhizas. *Mycorrhiza*, 333-372.
- Bouda, S., & Haddioui, A. (2011). Effet du stress salin sur la germination de quelques espèces du genre *Atriplex*. *Nature & Technologie*, 5, 72–79.
- Boulli, A., Baaziz, M., & Hirit, O. M. (2001). Polymorphism of natural populations of *Pinus*

- halepensis* Mill . in Morocco as revealed by morphological characters. *Euphytica*, 119, 309–316.
- Bremner, J. M. (1996). Nitrogen-total. In: Sparks DL (ed). Methods of soil analysis, Part 3, chemical methods-SSSA Book Series no. 5. In *Soil Science Society of America* (Issue 5, pp. 1085–1121).
- Bulltin-Officiel. (2014). 99-12 bulltin officiel.pdf. *Bulltin Officiel*, 6240(20 mars 2014), 2496–2500.
- Bulltin-Officiel. (2015). dahir n°1-15-76 du ramadan 1436(1rt juillet 2015) portant promulgation de la loi n°33-13 relative aux mines. *Bulltin Officiel*, 6384(6-8–2015), 3275–3286.
- Calvet, R. (2003). Le Sol: Propriétés et Fonctions. In *Edition France Agricole et Dunod, Paris. Tome 1&2* (p. 235).
- Chagne, D. (2004). *Développement de marqueurs moléculaires chez le pin maritime (Pinus pinaster Ait.) et cartographie génétique comparée des conifères*. (Doctoral dissertation, Universite Henri Poincare, Nancy 1).
- Chapin, F. S., & Kedrowski, R. A. (1983). Seasonal Changes in Nitrogen and Phosphorus Fractions and Autumn Retranslocation in Evergreen and Deciduous Taiga Trees. *Ecology*, 64(2), 376–391.
- Chaturvedi, R., Favas, P., Pratas, J., Varun, M., & Paul, M. S. (2018). Assessment of edibility and effect of arbuscular mycorrhizal fungi on *Solanum melongena* L . grown under heavy metal (loid) contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148(2018), 318–326.
- Chen, Y. L., Kang, L. H., Malajczuk, N., & Dell, B. (2006). Selecting ectomycorrhizal fungi for inoculating plantations in south China : effect of *Scleroderma* on colonization and growth of exotic *Eucalyptus globulus* , *E . urophylla* , *Pinus elliotii* , and *P . radiata*. *Mycorrhiza*, 16, 251–259.
- Clarholm, M. (1993). Microbial biomass P, labile P, and acid phosphatase activity in the humus layer of a spruce forest, after repeated additions of fertilizers. *Biology and Fertility of Soils*, 16, 287–292.
- Clemens, S. (2001). Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*, 212(4), 475–486. <https://doi.org/10.1007/s004250000458>
- Cobb, G. P., Sands, K., Waters, M., Wixson, B. G., & Dorward-King, E. (2000). Accumulation of Heavy Metals By Vegetables Grown in Mine Wastes. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(3), 600–607. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(2000\)019<0600:aohmbv>2.3.co;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(2000)019<0600:aohmbv>2.3.co;2)
- Colpaert, J. V., & Assche, J. A. Van. (1992). Zinc toxicity in ectomycorrhizal *Pinus sylvestris*. *Plant and Soil*, 143, 201–211.
- Council Directive of the European Communities (86/278/EEC). (1986). on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture (86 / 278 /EEC). *Official Journal of the European Communities*, L181/6, 6–12.
- Critchfield, W. B., & Little, E. L. (1966). *Geographic distribution of the pines of the world* (p. 97). <https://doi.org/10.5962/bhl.title.66393>

- Cunningham, S. . D., Anderson, T. . A., Schwab, A. P., & Hsu, F. . (1996). Phytoremediation of Soils Contaminated with Organic Pollutants. *Advances in Agronomy*, 56, 55–114.
- Cunningham, S. D., & Berti, W. R. (1993). Remediation of contaminated soils with green plants: An overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 29, 207–212.
- Dabouineau, L., Lamy, Y., & Collas, P. (2005). L ’ utilisation des plantes pour la dépollution et l ’ épuration des eaux usées. *Le Rôle d’eau*, 124, 8–15.
- Dalpé, Y. (2005). Les mycorhizes: Un outil de protection des plantes mais non une panacée. *Phytoprotection*, 86(1), 53–59. <https://doi.org/10.7202/011715ar>
- Devi, P., & Kumar, P. (2020). Concept and Application of Phytoremediation in the Fight of Heavy Metal Toxicity. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12(6), 795–804.
- Dias, R., Hadani, M., Leal Machado, I., Adnane, N., Hendaq, Y., Madih, K., & Matos, C. (2011). Variscan structural evolution of the western High Atlas and the Haouz plain (Morocco). *Journal of African Earth Sciences*, 61(4), 331–342. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2011.07.002>
- Duchesne, L. C. (1994). Role of ectomycorrhizal fungi in biocontrol. *Mycorrhizae and Plant Health*. F. L. Pflieger and R. G. Linderman, Eds. APS Press, St. Paul, MN., 27–46.
- Düřešová, Z., Šušnovská, A., Horník, M., Pipíška, M., Gubišová, M., Gubiš, J., & Hostin, S. (2014). Rhizofiltration potential of *Arundo donax* for cadmium and zinc removal from contaminated wastewater. *Chemical Papers*, 68(11), 1452–1462. <https://doi.org/10.2478/s11696-014-0610-2>
- El Amari, K., Valera, P., Hibti, M., Pretti, S., Marcello, A., & Essarraj, S. (2014). Impact of mine tailings on surrounding soils and ground water: Case of Kettara old mine, Morocco. *Journal of African Earth Sciences*, 100, 437–449. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2014.07.017>
- Erakhrumen, A. A. (2007). Phytoremediation: an environmentally sound technology for pollution prevention, control and remediation in developing countries. *Educational Research and Review*, 2(7), 151–156.
- Esshaimi, M., Ouazzani, N., Avila, M., Perez, G., Valiente, M., & Mandi, L. (2012). Heavy Metal Contamination of Soils and Water Resources Kettara Abandoned Mine. *American Journal of Environmental Sciences*, 3, 253–261.
- Farjon, A. (1984). Pines—Drawings and descriptions of the genus *Pinus*. L. *E.J.Brill, Leiden, The Netherlands*.
- Feng, Y., Grogan, P., Caporaso, J. G., Zhang, H., Lin, X., Knight, R., & Chu, H. (2014). PH is a good predictor of the distribution of anoxygenic purple phototrophic bacteria in Arctic soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 74, 193–200. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.014>
- Fiore-donno, A.-M. (2001). *Etude de biodiversité microbiologique forestière: variations annuelles et spatiales de la structuration génétique d’espèces choisies de champignons ectomycorhiziens*. Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré, Nancy-I.
- Fortin, A. J. A., Plenchette, C., & Piché, Y. (2008). Les mycorhizes la nouvelle révolution verte. In *édition Multi Mondes*.

- Fredlund, D. G., & Rahardjo, H. (1993). Soil mechanics for unsaturated soils. *Soil Dynamics and Earthquake Engineering*, 12(7), 449–450. [https://doi.org/10.1016/0267-7261\(93\)90011-f](https://doi.org/10.1016/0267-7261(93)90011-f)
- Gaba-chahboub, H., Lamhamedi, M. S., & Abrous-Belbachir, O. (2016). Effet de l' inoculation ectomycorhizienne en pépinière sur la croissance et la nutrition des plants du cèdre de l' Atlas en Algérie. *Bois et Forêt Des Tropiques*, 330(4), 57–68.
- Gaba-Chahboub, H., Lamhamedi, M. S., & Abrous-Belbachir, O. (2016). Effet de l' inoculation ectomycorhizienne en pépinière sur la croissance et la nutrition des plants du cèdre de l'Atlas en Algérie. *Bois et Forêts Des Tropiques*, 0(330), 57–67. <https://doi.org/10.19182/bft2016.330.a31319>
- Gagnon, J., & Lamhamedi, M. S. (2011). L' inoculation des plants résineux en récipients par des spores de champignons ectomycorhiziens à l'automne pourrait-elle contribuer à réduire les problèmes d'insuffisance racinaire dans les pépinières forestières du Québec ? In *Carrefour Forêt Innovations* (pp. 27–32).
- Ghosh, M., & Singh, S. P. (2005). A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. *Environmental Pollution*, 133(2), 365–371. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.05.015>
- González, V., García, I., Moral, F. Del, & Simón, M. (2012). Effectiveness of amendments on the spread and phytotoxicity of contaminants in metal – arsenic polluted soil. *Journal of Hazardous Materials*, 206, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.12.011>
- Greppin, H., Auderset, G. U. Y., Bonzon, M., Degli agosti, R., Lenk, R., & Penel, C. (1986). Le mécanisme de l' induction florale. *Saussurea*, 17, 71–84.
- Grovel, M. R. (1996). La préservation des forêts du Rif centro-occidental : un enjeu de développement de la montagne rifaine. *Revue de Géographie Alpine*, 4, 75–94.
- Grzegórska, A., Rybarczyk, P., Rogala, A., & Zabrocki, D. (2020). Phytoremediation — from environment cleaning to energy generation — current status and future perspectives. *Energies*, 13, 43.
- Guerrero-Galán, C., Calvo-Polanco, M., & Zimmermann, S. D. (2019). Ectomycorrhizal symbiosis helps plants to challenge salt stress conditions. *Mycorrhiza*, 29(4), 291–301. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00894-2>
- Guissou, T., Bâ, A. M., Plenchelte, C., GUINKO, S., & Duponnois, R. (2001). Effets des mycorhizes à arbuscules sur la tolérance à un stress hydrique de quatre arbres fruitiers : *Balunites aegyptiaca* (L.) Del. I *Purkiu biglobosa* (Jacq.) Benth., *Tumurindus indicu* L. et *Zizyphus mauritanu* Lam. *Secheresse*, 12(2), 121–128.
- Guo, M., Ding, G., Gao, G., Zhang, Y., Cao, H., & Ren, Y. (2020). Community composition of ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus sylvestris* var . *mongolica* plantations of various ages in the Horqin Sandy Land. *Ecological Indicators*, 110(October 2019), 105860. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105860>
- Gupta, D. K., Chatterjee, S., & Walther, C. (2020). *Lead in Plants and the Environment*. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-21638-2>
- Hajib, S., Sbay, H., Aafi, A., & Saidi, S. (2013). *l'etat es ressources genetiques foresieres mondiales ,rapport natinal ,Le royaume du maroc*.

- Hakkou, R., Benzaazoua, M., & Bussi re, B. (2008). Acid Mine Drainage at the Abandoned Kettara Mine (Morocco): 1 . Environmental Characterization. *Mine Water and the Environment*, 27(3), 145–159.
- Hameed, A., Dilfuza, E., Abd-allah, E. F., Hashem, A., Kumar, A., & Ahmad, P. (2014). Salinity Stress and Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis in Plants. In *Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses* (pp. 139–159). <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9466-9>
- Hänsch, R., & Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.006>
- Harrier, L. A., & Watson, C. A. (2004). The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and / or other sustainable farming systems. *Pest Management Science*, 60, 149–157. <https://doi.org/10.1002/ps.820>
- Hartemink, A. E. (2016). The Definition of Soil Since the Early 1800s. In *Advances in Agronomy* (Vol. 137). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2015.12.001>
- Hasan, M. M., Uddin, M. N., Ara-Sharmeen, I., Alharby, H. F., Alzahrani, Y., Hakeem, K. R., & Zhang, L. (2019). Assisting phytoremediation of heavy metals using chemical amendments. *Plants*, 8(9), 1–14. <https://doi.org/10.3390/plants8090295>
- Hazrat, A., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals — Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869–881. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
- Hooda, P. S. (2010). *Trace Elements in Soils*. <https://doi.org/10.1002/9781444319477>
- Huang, J. W., Chen, J., & Cunningham, S. D. (1997). Phytoextraction of lead from contaminated soils. Dans *Phytoremediation of soil and water contaminants* . *American Chemical Society: Washington, DC*, 283–297. <https://doi.org/10.1021/bk-1997-0664.ch021>
- Huey, C. J., Gopinath, S. C. B., Uda, M. N. A., Zulhaimi, H. I., Jaafar, M. N., Kasim, F. H., & Yaakub, A. R. W. (2020). Mycorrhiza: a natural resource assists plant growth under varied soil conditions. *3 Biotech*, 10(5). <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02188-3>
- Huvelin, P. (1977). Etude géologique et gîtologique du massif hercynien des Jebilettes (Maroc occidentale). *Notes et Mémoires Du Service Géologique Du Maroc. (232 Bis)*.
- Huynh, T. M. D. (2009). *Impact des métaux lourds sur les interactions plante / ver de terre / microflore tellurique*. doctoral dissertation Université Paris Est-Créteil.
- ISO. (2015). Une introduction   la norme ISO 14001:2015. In *ISO 14001* -.
- Jana, B. B., Mandal, R. N., & Jayasankar, P. (2018). *Wastewater Management Through Aquaculture*.
- Javelle, A., & Chalot, M. (1999). Ammonium and methylamine transport by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* and ectomycorrhizas. 30.
- Johnson, N. C., Graham, J. H., & Smith, F. A. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*, 135, 575–585.

- Joner, E. J., Corgie, S. C., Amellal, N., & Leyval, C. (2002). Nutritional constraints to degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in a simulated rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry*, *34*, 859-864.
- Joner, E. J., Johansen, A., Loibner, A. P., De La Cruz, M. A., Szolar, O. H. J., Portal, J.-M., & Leyval, C. (2001). Rhizosphere effects on microbial community structure and dissipation and toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in spiked soil. *Environmental Science & Technology*, *35*, 2773-2777.
- Kabata-pendias, A., & Pendias, H. (2001). Trace Elements in Soils and Plants. In (3rd ed) *CRC Press, Boca Raton* (p. 403).
- Kaufman, M. (2020). An Organic-Based Food System: A Voyage Back and Forward in Time. In *Diet for a Sustainable Ecosystem* (pp. 375-395).
- Khalil, A., Hanich, L., Bannari, A., Zouhri, L., Pourret, O., & Hakkou, R. (2013). Assessment of soil contamination around an abandoned mine in a semi-arid environment using geochemistry and geostatistics: Pre-work of geochemical process modeling with numerical models. *Journal of Geochemical Exploration*, *125*, 117-129.
- Khouja, M. L. (2020). *Le Pin d ' Alep en Tunisie : Ecologie , Gestion et Usages*.
- Khuong, N. Q., Kantachote, D., Nookongbut, P., Onthong, J., Thanh Xuan, L. N., & Sukhoom, A. (2020). Mechanisms of acid-resistant *Rhodopseudomonas palustris* strains to ameliorate acidic stress and promote plant growth. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *24*(February), 101520. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101520>
- Kirpichtchikova, T. (2009). *Phytoremédiation par Jardins Filtrants d'un sol pollué par des métaux lourds Approche de la phytoremédiation dans des casiers végétalisés par des plantes de milieux humides et étude des mécanismes de remobilisation/immobilisation du zinc et du cuivre*. Doctoral dissertation, Université Joseph Fourier - Grenoble I.
- Komárek, M., Tlustoš, P., Száková, J., Chrástný, V., & Ettlér, V. (2007). The use of maize and poplar in chelant-enhanced phytoextraction of lead from contaminated agricultural soils. *Chemosphere*, *67*(4), 640-651. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.11.010>
- Koptsik, G. N. (2014). Problems and prospects concerning the phytoremediation of heavy metal polluted soils: A review. *Eurasian Soil Science*, *47*(9), 923-939. <https://doi.org/10.1134/S1064229314090075>
- Kraigher, H., Al Sayegh Petkovšek, S., Grebenc, T., & Simončič, P. (2007). Types of ectomycorrhiza as pollution stress indicators: Case studies in Slovenia. *Environmental Monitoring and Assessment*, *128*(1-3), 31-45. <https://doi.org/10.1007/s10661-006-9413-4>
- Laghlimi, M., Baghdad, B., El Hadi, H., & Bouabdli, A. (2015). Phytoremediation Mechanisms of Heavy Metal Contaminated Soils : A Review. *Open Journal of Ecology*, *5*, 375-388.
- Lasat, M. M. (2002). Phytoextraction of Toxic Metals : A Review of Biological Mechanisms. *Journal of Environl. Lasat, M. M. Phytoextraction of Toxic Metals : A Review of Biological Mechanisms. Journal of Environmental Quality*, *31*, 109. (2002) *Environmental Quality*, *31*, 109-120.
- Lasat, M. M., Baker, A. J. M., & Kochian, L. V. (1998). Altered Zn compartmentation in the

- root symplasm and stimulated Zn absorption into the leaf as mechanisms involved in Zn hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiology*, 118(3), 875–883. <https://doi.org/10.1104/pp.118.3.875>
- Lee, B. X. Y., Hadibarata, T., & Yuniarto, A. (2020). Phytoremediation Mechanisms in Air Pollution Control: a Review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 231(8), 437. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04813-6>
- Lee, J. H. (2013). An Overview of Phytoremediation as a Potentially Promising Technology for Environmental Pollution Control. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18, 431–439. <https://doi.org/10.1007/s12257-013-0193-8>
- Lehto, T., & Zwiazek, J. J. (2011). Ectomycorrhizas and water relations of trees : a review. *Mycorrhiza*, 21, 71–90. <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0348-9>
- Lemière, B., Seguin, J. J., Le Guern, C., Guyonnet, D., & Baranger, P. (2001). *Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes. Applications dans un contexte d'Évaluation Détaillée des Risques pour les ressources en eau.*
- Leyval, C., Joner, E. J., Del Val, C., & Haselwandter, K. (2002). Potential of arbuscular mycorrhizal fungi for bioremediation. *Mycorrhizal Technology in Agriculture: From Genes to Bioproducts*. Birkhauser, Springer Verlag.
- Lghoul, M., Teixidó, T., Peña, J. A., Kchikach, A., Guérin, R., & Hakkou, R. (2012). Electrical and seismic tomography used to image the structure of a tailings pond at the Abandoned Kettara Mine, Morocco. *Near Surface Geoscience 2012, September 2012*, 3–5. <https://doi.org/10.3997/2214-4609.20143485>
- Lghoul, Meriem. (2014). *Apport de la Géophysique, de l'hydrogéochimie et de la modélisation du transfert en DMA: projet de réhabilitation de la mine abandonnée de Kettara (région de Marrakech, Maroc)*. Dissertation, University of Cadi Ayyad.
- Lghoul, Meriem, Kchikach, A., Hakkou, R., Zouhri, L., Bendjoudi, H., Teixido, T., Penã, J. A., Enriquè, L., Jaffal, M., & Hanich, L. (2012). *Etude géophysique et hydrogéologique du site minier abandonné de Kettara (région de Marrakech , Maroc) : contribution au projet de réhabilitation de Kettara (région de Marrakech , Maroc) : contribution au projet*. 6667(January 2018). <https://doi.org/10.1080/02626667.2011.637495>
- Li, Y., Chen, Z., He, J. Z., Wang, Q., Shen, C., & Ge, Y. (2019). Ectomycorrhizal fungi inoculation alleviates simulated acid rain effects on soil ammonia oxidizers and denitrifiers in Masson pine forest. *Environmental Microbiology*, 21(1), 299–313. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14457>
- Limmer, M., & Burken, J. (2016). Phytovolatilization of Organic Contaminants. *Environmental Science and Technology*, 50(13), 6632–6643. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04113>
- Lindahl, B. D., & Tunlid, A. (2015). Ectomycorrhizal fungi - potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs. *New Phytologist*, 205(4), 1443–1447. <https://doi.org/10.1111/nph.13201>
- Liu, B., Wang, S., Wang, J., Zhang, X., Shen, Z., Shi, L., & Chen, Y. (2020). The great potential for phytoremediation of abandoned tailings pond using ectomycorrhizal *Pinus sylvestris*. *Science of the Total Environment*, 719, 137475. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137475>

- Liu, S., Liu, W., Yang, M., Zhou, L., & Liang, H. (2016). The genetic diversity of soil bacteria affected by phytoremediation in a typical barren rare earth mined site of South China. *SpringerPlus*, April 2014. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2814-0>
- Lv, B., Zhang, D., Cui, Y., & Yin, F. (2018). Effects of C/N ratio and earthworms on greenhouse gas emissions during vermicomposting of sewage sludge. *Bioresource Technology*, 268, 408–414. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.004>
- Machon, P., Santamaria, O., Pajares, J. A., Alves-santos, F. M., & Diez, J. J. (2006). Influence of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* on pre-emergence, post-emergence and late damping-off by *Fusarium moniliforme* and *F. oxysporum* on Scots pine seedlings. *Symbiosis*, 42, 153–160.
- Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Kumar, M., Hussain, A., Wang, Q., Li, R., & Zhang, Z. (2016). Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 126, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.023>
- Marion, J., & Poupon, J. (1974). *Manuel pratique de reboisement. Rapport technique n°2 . F.A.O. SF/TUN 11 :*
- Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants. Second Edition, Academic Press.*
- Matsuda, Y., & Hijii, N. (1999). Ectomycorrhizal morphotypes of naturally grown *Abies firma* seedlings. *Mycoscience*, 40, 217–228.
- McGrath, S. . (1998). Phytoextraction for Soil Remediation. In *Brooks, R.R. (Ed.). Plants that hyperaccumulate heavy metals. CABI Publishing, Wallingford* (pp. 261-287.).
- Meeinkuirt, W., Kruatrachue, M., Pichtel, J., Phusantisampan, T., & Saengwilai, P. (2016). Influence of organic amendments on phytostabilization of Cd-contaminated soil by *Eucalyptus camaldulensis*. *Science Asia*, 42, 83–91. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2016.42.083>
- Meliho, M. (2015). *Formations forestières et préforestières du bassin versant de Tensift : Potentialités écologiques, analyse diachronique, facteurs de changement et vulnérabilité aux changements climatiques.*
- Mendoza-Cózatl, D. G., & Moreno-Sánchez, R. (2005). Cd 2+ transport and storage in the chloroplast of *Euglena gracilis*. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1706(1–2), 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2004.09.010>
- Midhat, L. (2018). *L'évaluation de la pollution métallique des sols et leur phytoremediation assistée par les déchets de marbre : cas des sites miniers abandonnés des Jbilettes centrales à Marrakech.* Doctoral dissertation, Université Cadi Ayyad.
- Midhat, L., Ouazzani, N., Esshaimi, M., Ouhammou, A., & Mandi, L. (2017). Assessment of heavy metals accumulation by spontaneous vegetation : screening for new accumulator plant species grown in Kettara mine-Marrakech, Southern Morocco. *International Journal of Phytoremediation*, 19(2), 191–198.
- Midhat, L., Ouazzani, N., Hejjaj, A., Ouhammou, A., & Mandi, L. (2019). Accumulation of heavy metals in metallophytes from three mining sites (Southern Centre Morocco) and evaluation of their phytoremediation potential. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169(2019), 150–160.

- Migeon, A. (2009). *Etude de la variabilité naturelle dans la réponse du peuplier aux métaux : Bases physiologiques et exploitation en phytoremédiation*. Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré, Nancy-Université.
- Miller, R. M., Reinhardt, D. R., & Jastrow, J. D. (1995). External hyphae production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities. *Oecologia*, *103*, 17–23.
- Minchin, R. F., Ridgway, H. J., Condrón, L., & Jones, E. E. (2012). Influence of inoculation with a *Trichoderma* bio-inoculant on ectomycorrhizal colonisation of *Pinus radiata* seedlings. *Annals of Applied Biology*, *161*, 57–67. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2012.00552.x>
- Mirko, V. (1991). *Conifers, morphology and variation*.
- Morel, J. (1990). Phytoremédiation des sols contaminés : des plantes pour guérir les sols. *La Chimie et La Nature*, 157–185.
- Morikawa, H., & Erkin, Ö. C. (2003). Basic processes in phytoremediation and some applications to air pollution control. *Chemosphere*, *52*(9), 1553–1558. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00495-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00495-8)
- Morin, C., Samson, J., & Dessureault, M. (1999). Protection of black spruce seedlings against *Cylindrocladium* root rot with ectomycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany*, *77*, 169–174.
- Morte, A., Díaz, G., Rodríguez, P., Alarcón, J. J., & Sánchez-Blanco, M. J. (2001). Growth and Water Relations in Mycorrhizal and Nonmycorrhizal *Pinus halepensis* Plants in Response to Drought. *Biologia Plantarum*, *44*(2), 263–267.
- Mouttaqi, A., Rjimati, E. C., Maacha, L., Michard, A., Soulaïmani, A., & Ibouh, H. (2011). *les Principales Mines du Maroc* (Vol. 9).
- Mukhopadhyay, S., & Maiti, S. (2010). Phytoremediation of metal enriched mine waste: a review. *Glob J Environ Res*, *4*, 135 – 150.
- Munkvold, L., Kjølner, R., Vestberg, M., Rosendahl, S., & Jakobsen, I. (2004). High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, *164*(2), 357–364. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01169.x>
- Mustoe, G. E. (2018). Mineralogy of non-silicified fossil wood. *Geosciences (Switzerland)*, *8*(3), 32. <https://doi.org/10.3390/geosciences8030085>
- Nahal, I. (1962). Le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill). Etude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. In *Annales de l'Ecole Nationale des Eaux & Forêts* (Vol. 19, p. 208).
- Nahar, K., Bovill, B., & McDonald, G. (2020). Mycorrhizal colonization in bread wheat varieties differing in their response to phosphorus. *Journal of Plant Nutrition*, *0*(0), 1–17. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1793190>
- Nedjimi, B., Difi, M., & Haddioui, A. (2014). Effets des différents prétraitements sur la germination des semences de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill). *Revue Des BioRessources*, *4*(2), 40–45.
- Nfissi, S., Alikouss, S., Zerhouni, Y., Hakkou, R., Benzaazoua, M., & Bouzahzah, H. (2017).

- Control of acid mine drainage from an abandoned mine in Morocco by using cement kiln dust and fly ash as amendments. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8(12), 4457–4466.
- Nfissi, Samiha, Youssef, Z., Mostafa, B., Saida, A., Abdessadek, C., Rachid, H., & Mohamed, S. (2011). Caractérisation Des Résidus Miniers Des Mines Abandonnées De Kettara Et De Roc Blanc (Jebilet Centrales, Maroc). *Ann.Soc.Géol. Du Nord*, 43–53.
- Nouaim, R., & Chaussod, R. (1996). Rôle des mycorhizes dans l' alimentation hydrique et minérale des plantes , notamment des ligneux de zones arides. *Options Méditerranéennes*, 20, 9–26.
- Nounsi, A., Outcoumit, A., Selmaoui, K., Touhami, A. O., Benkirane, R., & Douira, A. (2014). Inventaire des champignons ectomycorhiziens du Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, 79, 6826–6854.
- Nouri, M., & Haddioui, A. (2016). Les techniques de dépollution des sols contaminés par les métaux lourds: une revue. *Maghrebian Journal of Pure and Applied Science*, 2(2), 47–58.
- Olchowik, J., Suchocka, M., Malewski, T., Baczewska-Dabrowska, A., Studnicki, M., & Hilszczanska, D. (2020). The Ectomycorrhizal Community of Crimean Linden Trees in Warsaw , Poland. *Forests*, 11, 926.
- Orwin, K. H., Kirschbaum, M. U. F., St John, M. G., & Dickie, I. A. (2011). Organic nutrient uptake by mycorrhizal fungi enhances ecosystem carbon storage: A model-based assessment. *Ecology Letters*, 14(5), 493–502. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01611.x>
- Ouahmane, L., Hafidi, M., Thioulouse, J., Ducouso, M., Kisa, M., Prin, Y., Galiana, A., Boumezzough, A., & Duponnois, R. (2007). Improvement of *Cupressus atlantica* Gaussen growth by inoculation with native arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 683–690.
- Ouahmane, Lahcen. (2007). Rôles de la mycorhization et des plantes associées (lavande et thym) dans la croissance du cyprès de l'Atlas (*Cupressus atlantica* G.) : conséquences sur la biodiversité rhizosphérique et la réhabilitation des milieux dégradés. *These de Doctorat, Université Cadi Ayyad, Maroc.*, 196.
- Ouatiki, E., Midhat, L., Tounsi, A., Amir, S., Aziz, F., Radi, M., & Ouahmane, L. (2022). The association between *Pinus halepensis* and the Ectomycorrhizal fungus *Scleroderma* enhanced the phytoremediation of a polymetal-contaminated soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 0123456789, 1–14. <https://doi.org/10.1007/s13762-022-03993-4>
- Ouatiki, Elmehdi, Tounsi, A., Amir, S., Midhat, L., Radi, M., & Ouahmane, L. (2021). Inoculation of *Pinus halepensis* with the Ectomycorrhizal fungi *Scleroderma* helps in phytoremediation to soil polymetallic pollution. *Polish Journal of Environmental Studies*, 30(6), 1–11. <https://doi.org/10.15244/pjoes/131979>
- Pacé, M., Paré, D., Fenton, N. J., & Bergeron, Y. (2020). Effects of lichen, *Sphagnum* spp. and feather moss leachates on jack pine and black spruce seedling growth. *Plant and Soil*, 452(1–2), 441–455. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04587-0>
- Pandey, J., Chand, S., Pandey, S., Rajkumari, & Patra, D. D. (2015). Palmarosa [

- Cymbopogon martinii (Roxb .) Wats .] as a putative crop for phytoremediation , in tannery sludge polluted soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.08.005>
- Pandey, V. C., & Bajpai, O. (2019). Phytoremediation : From theory toward practice. In *Phytomanagement of Polluted Sites* (pp. 1–49). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813912-7.00001-6>
- Park, S., Kim, K. S., Kim, J. T., Kang, D., & Sung, K. (2011). Effects of humic acid on phytodegradation of petroleum hydrocarbons in soil simultaneously contaminated with heavy metals. *Journal of Environmental Sciences*, 23(12), 2034–2041. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(10\)60670-5](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(10)60670-5)
- Pasqualini, V., Robles, C., Garzino, S., Greff, S., Bousquet-Melou, A., & Bonin, G. (2003). Phenolic compounds content in *Pinus halepensis* Mill. needles: A bioindicator of air pollution. *Chemosphere*, 52(1), 239–248. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00268-6](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00268-6)
- Pérez-Bendito, D., & Rubio, S. (1999). Determination of soil pollutants. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (pp. 605–647).
- Peterson, R. L., Massicotte, H. B., & Melville, L. H. (2004). *Mycorrhizas : Anatomy and Cell Biology*.
- Plassard, C., Robin, A., Le Cadre, E., Marsden, C., Trap, J., Herrmann, L., Waithaisong, K., Lesueur, D., Blanchart, E., L, C.-L., & P, H. (2015). Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol ? *Innovations Agronomiques*, 43(43), 115–138.
- Plassard, C., Scheromm, P., Mousain, D., Bousquet, N., & Salsac, L. (1988). Ectomycorhizes et nutrition minérale — Relations source-puits. *Bulletin de La Société Botanique de France*, 135(1), 109–118. <https://doi.org/10.1080/01811789.1988.10826891>
- Prance, M., & Fechner, N. (2017). Collecting and preserving fungi specimens, a manual version 2.1. *Department of Science, Information Technology and Innovation, Brisbane*.
- Prasad, M. (2004). *Heavy Metal Stress in Plants*.
- Prasad, M. N. V., & Hagemeyer, J. (1999). Heavy Metal Stress in Plants: From Molecules to Ecosystems. In *springer*. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00010-8](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00010-8)
- Prasad, M. N. . (2004). *Heavy metal stress in plants : from biomolecules to ecosystems (2ème édition)*. Springer.
- Prévosto, B. (2013). *Le pin d’Alep en France*.
- Purakayastha, T. J., & Chhonkar, P. K. (2010). Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soils. *Sherameti and A. Varma (Eds.), Soil Heavy Metals, Soil Biology*, 19, 389–429. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-02436-8>
- Püschel, D., Bitterlich, M., Rydlová, J., & Jansa, J. (2020). Facilitation of plant water uptake by an arbuscular mycorrhizal fungus : a Gordian knot of roots and hyphae. *Mycorrhiza*, 30, 219–330.
- Quezel, P. (1986). Les pins du groupe "Halepensis " Ecologie , Végétation , Ecophysiologie. *Ciheam Cahiers Options Méditerranéennes*, 23, 11–23.

- Quézel, P., & Barbero, M. (1992). le pin d ' Alep et les espèces voisines : répartition et caractères écologiques généraux, sa dynamique récente en France méditerranéenne. *Forêt Méditerranéenne*, 13, 158–170.
- Quezel, P., & Bonin, G. (1980). Les forêts feuillues du pourtour méditerranéen. *Revue Forestière Française*, 32(3), 253–268.
- Radi, M., Hamdali, H., Abdelilah, M., Lahcen, O., & Hafidi, M. (2014). Le potentiel mycorhizogène des sols urbains en zones semi-arides et la tolérance du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) au déficit hydrique. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(6), 1957–1967.
- Raskin, I., Smith, R. D., & Salt, D. E. (1997). Phytoremediation of metals : using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology*, 8, 221–226.
- Remon, E., Bouchardon, J., Cornier, B., Guy, B., Leclerc, J., & Faure, O. (2005). Soil characteristics , heavy metal availability and vegetation recovery at a former metallurgical landfill : Implications in risk assessment and site restoration. *Environmental Pollution*, 137(2005), 316–323.
- Repac, I. (2011). Ectomycorrhizal Inoculum and Inoculation Techniques. In: Rai R, Varma A (eds). *Diversity and Biotechnology of Ectomycorrhizae. Soil Biology Series. Springer, Berlin*, 43–63. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-15196-5>
- Reyes-Tena, A., Rincón-Enríquez, G., López-Pérez, L., & Quiñones-Aguilar, E. E. (2017). Effect of mycorrhizae and actinomycetes on growth and bioprotection of capsicum annum L. Against phytophthora capsici. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 54(3), 513–522. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/17.4245>
- Rincon, A., Parladé, J., & Pera, J. (2007). Influence of the fertilisation method in controlled ectomycorrhizal inoculation of two Mediterranean pines. *Annals of Forest Science*, 64(2007), 577–583.
- Rodriguez, J. H., Wannaz, E. D., Salazar, M. J., Pignata, M. L., Fangmeier, A., & Franzaring, J. (2012). Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in the tree foliage of *Eucalyptus rostrata*, *Pinus radiata* and *Populus hybridus* in the vicinity of a large aluminium smelter in Argentina. *Atmospheric Environment*, 55, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.03.026>
- Rodríguez Martin, J. A., Gutiérrez, C., Torrijos, M., & Nanos, N. (2018). Wood and bark of *Pinus halepensis* as archives of heavy metal pollution in the Mediterranean Region. *Environmental Pollution*, 239, 438–447. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.036>
- Roldán, A., & Albaladejo, J. (1994). Effect of mycorrhizal inoculation and soil restoration on the growth of *Pinus halepensis* seedlings in a semiarid soil. *Biology and Fertility of Soils*, 18, 143–149.
- Sakakibara, M., Watanabe, A., Sano, S., Inoue, M., & Kaise, T. (2007). Phytoextraction and phytovolatilization of arsenic from as-contaminated soils by *Pteris vittata*. *Association for Environmental Health and Sciences - 22nd Annual International Conference on Contaminated Soils, Sediments and Water 2006*, 12(January), 258–263.
- Salt, D. E., Smith, R. . . , & Raskin, I. (1998a). PHYTOREMEDIATION. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 643–668.

- Salt, D. E., Smith, R. D., & Raskin, I. (1998b). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 643–668.
- Satil, F., Selvi, S., & Polat, R. (2011). Ethnic uses of pine resin production from *Pinus brutia* by native people on the Kazda ğ Mountain (Mt . Ida) in Western Turkey. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9, 1059–1063.
- Schachtman, D. P., Reid, R. J., & Ayling, S. M. (1998). Update on Phosphorus Uptake Phosphorus Uptake by Plants : From Soil to Cell. *Plant Physiol*, 116, 447–453.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). A new fungal phylum , the *Glomeromycota* : phylogeny and evolution *. 105(December), 1413–1421.
- Seb, J., & Ajungla, T. (2018). Role of ectomycorrhiza in forest ecosystems. *International Journal of Advanced Research*, 6(8), 866–873. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/7588>
- Seigue, A. (1985). *La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes*.
- Selosse, M.-A., & Tacon, F. Le. (1998). The land flora: a phototroph–fungus partnership? *Trends Ecology Evolution*, 13(1), 15–20.
- Sharma, P., & Pandey, S. (2014). Status of Phytoremediation in World Scenario. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 2(4), 178–191. <https://doi.org/10.12691/ijebb-2-4-5>
- Sharma, S., Singh, B., & Manchanda, V. K. (2014). Phytoremediation : role of terrestrial plants and aquatic macrophytes in the remediation of radionuclides and heavy metal contaminated soil and water. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 946–962. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3635-8>
- Sieverding E. (1991). *Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Managemment, Technical Cooperation-Federal Republik of German, Eschborn*.
- Sim, M., & Eom, A. (2006). Effects of Ectomycorrhizal Fungi on Growth of Seedlings of *Pinus densiflora*. *Mycobiology*, 34(4), 191–195.
- Simonson, R. W. (1968). Concept of soil. *Advances in Agronomy*, 1–47.
- Singh, S., & Sinha, S. (2005). Accumulation of metals and its effects in *Brassica juncea* (L.) Czern. (cv. Rohini) grown on various amendmets of tannery waste. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(1), 118–127. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.12.026>
- Smith, S. E., & Read, D. J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*.
- Sposito, G. (2008). *the chemistry of soils*.
- Stevens, G. C., & Enquist, B. J. (1997). Macroecological limits to the abundance and distribution of *Pinus*. In *Ecology and Biogeography of Pinus* (ed. D.M. Richardson) Cambridge University Press, Cambridge (pp. 183–190).
- Stomp, A., Han, K., Wilbert, S., Gordon, M. p., & Cunningham, S. d. (1994). Genetic strategies for enhancing phytoremediation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 721(1), 481–491. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1994.tb47418.x>
- Subašić, M., Šamec, D., Selović, A., & Karalija, E. (2022). Phytoremediation of Cadmium Polluted Soils: Current Status and Approaches for Enhancing. *Soil Systems*, 6(1), 1–21.

- <https://doi.org/10.3390/soilsystems6010003>
- Susarla, S., Medina, V. F., & Mccutcheon, S. C. (2002). Phytoremediation : An ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering*, 18, 647–658.
- Tang, Y., Shi, L., Zhong, K., Shen, Z., & Chen, Y. (2019). Ectomycorrhizal fungi may not act as a barrier inhibiting host plant absorption of heavy metals. *Chemosphere*, 215, 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.143>
- Taylor, T. N., Remy, W., Hass, H., & Kerp, H. (1995). Fossil arbuscular mycorrhizae from the Early Devonian. *Mycologia*, 87(4), 560–573. <https://doi.org/10.1080/00275514.1995.12026569>
- Teng, Y., Luo, Y., Sun, X., Tu, C., Xu, L., Lui, W., Li, Z., & Christie, P. (2010). Influence of Arbuscular Mycorrhiza and Rhizobium on Phytoremediation by Alfalfa of an Agricultural Soil Contaminated with Weathered PCBs: A Field Study. *International Journal of Phytoremediation*, 12(5), 516–533.
- Tozsin, G., Oztas, T., Arol, A. I., Kalkan, E., & Duyar, O. (2014). The effects of marble wastes on soil properties and hazelnut yield. *Journal of Cleaner Production*, 81, 146–149. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.06.009>
- Turjaman, M., Tamai, Y., Segah, H., Limin, S. H., Cha, J., Osaki, M., & Tawaraya, K. (2005). Inoculation with the ectomycorrhizal fungi *Pisolithus arhizus* and *Scleroderma* sp . improves early growth of *Shorea pinanga* nursery seedlings. *New Forests*, 30, 67–73. <https://doi.org/10.1007/s11056-004-1954-1>
- Vangronsveld, J., Herzig, R., Weyens, N., Boulet, J., Adriaensen, K., Ruttens, A., Thewys, T., Vassilev, A., Meers, E., Nehnevajova, E., van der Lelie, D., & Mench, M. (2009). Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: Lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(7), 765–794. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0213-6>
- Verdin, A., Lounes-Hadj, S. A., Fontaine, J., Grandmougin-Ferjani, A., & Durand, R. (2006). Effects of anthracene on development of an arbuscular mycorrhizal fungus and contribution of the symbiotic association to pollutant dissipation. *Mycorrhiza*, 16, 397–405.
- Vodnik, D., Grčman, Macek, I., van Elteren, J. T., & Kovacevic, M. (2007). The contribution of glomalin- related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. *Science of the Total Environment*, 392, 130–136.
- Wahid, N., Joudre, H., Lamhamedi, M. S., Abdenbi, Z. E., & Boulli, A. (2010). Évaluation de la structure et de la variabilité génétiques des populations naturelles du pin d ’Alep (*Pinus halepensis* Mill .) au Maroc à l ’ aide de marqueurs isoenzymatiques. *Acta Botanica Gallica*, 157(3), 419–431.
- Walker, C. H., Sibly, R. M., Hopkin, S. P., & Peakall, D. B. (2012). *Principales of ecotoxicology*.
- Wuana, R. A., & Okieimen, F. E. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils : A Review of Sources , Chemistry , Risks and Best Available Strategies for Remediation. *Science and Plant Analysis*, 42, 111–122. <https://doi.org/10.5402/2011/402647>
- Xu, Z., Zhang, T., Wang, S., & Wang, Z. (2020). Soil pH and C/N ratio determines spatial

- variations in soil microbial communities and enzymatic activities of the agricultural ecosystems in Northeast China: Jilin Province case. *Applied Soil Ecology*, 155(5268), 103629. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103629>
- Xuanzhen, L., Li, Y., Zhu, X., Gui, X., Ma, C., Peng, W., Li, Y., Zhang, Y., Huang, W., Hua, D., Jia, S., & Wu, M. (2022). Evaluation of the cadmium phytoextraction potential of tobacco (*Nicotiana tabacum*) and rhizosphere micro-characteristics under different cadmium levels. *Chemosphere*, 286(P2), 131714. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131714>
- Yadav, D., & Kumar, P. (2019). Phytoremediation of Hazardous Radioactive Wastes. In *Assessment and Management of Radioactive and Electronic Wastes* (pp. 29–43).
- Yan, H., Kou, L., Wang, H., Fu, X., Dai, X., & Li, S. (2019). Contrasting root foraging strategies of two subtropical coniferous forests under an increased diversity of understory species. *Plant and Soil*, 436(1–2), 427–438. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-03936-y>
- Yang, S., Liang, S., Yi, L., Xu, B., Cao, J., Guo, Y., & Zhou, Y. (2014). Heavy metal accumulation and phytostabilization potential of dominant plant species growing on manganese mine tailings. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 8(3), 394–404. <https://doi.org/10.1007/s11783-013-0602-4>
- Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., & Ma, L. Q. (2006). Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment*, 368, 456–464. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.016>
- You, Y., Wang, L., Ju, C., Wang, G., Ma, F., Wang, Y., & Yang, D. (2021). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and toxic element uptake of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud under zinc/cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 213, 112023. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112023>
- Yu, P., Sun, Y., Huang, Z., Zhu, F., Sun, Y., & Jiang, L. (2020). The effects of ectomycorrhizal fungi on heavy metals' transport in *Pinus massoniana* and bacteria community in rhizosphere soil in mine tailing area. *Journal of Hazardous Materials*, 381, 121203. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121203>
- Zarik, L., Meddich, A., Hijri, M., Hafidi, M., Ouhammou, A., Ouahmane, L., Duponnois, R., & Boumezzough, A. (2016). Utilisation de champignons mycorrhiziens arbusculaires en vue de l'amélioration de la tolérance à la sécheresse de *Cupressus atlantica* G. *Comptes Rendus - Biologies*, 339(5–6), 185–196. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2016.04.009>
- Zheng, H., Wang, Z., Deng, X., Herbert, S., & Xing, B. (2013). Impacts of adding biochar on nitrogen retention and bioavailability in agricultural soil. *Geoderma*, 206, 32–39.
- Zine, H., Ait babahmad, R., El Berkaoui, M., El Adnani, M., Hakkou, R., Smouni, A., Fahr, M., Bouab, N., Faiz, A. El, & Ouhammou, A. (2018). Screening for native plant species potential revegetation of phosphatic clay applied as a cover to abandoned Kettara mine tailings Marrakech, Morocco Screening for native plant species potential revegetation of phosphatic clay applied as a cover to aband. *Smetex Journal*, 1, 83–88.
- Zong, K., Huang, J., Nara, K., Chen, Y., Shen, Z., & Lian, C. (2015). Inoculation of ectomycorrhizal fungi contributes to the survival of tree seedlings in a copper mine tailing. *Journal of Forest Research*, 20(6), 493–500. <https://doi.org/10.1007/s10310-015-0506-1>

Sites internet:

<https://open.oregonstate.education/ukk>

https://www.memoireonline.com/04/12/5661/m_etude-comparative-entre-les-proprietes-physiques-de-base-du-bois-de-pin-dAlep-et-de-pin-mariti14.html

<https://tool-online.com>