

Effet de l'épandage des margines sur la microflore du sol

*A. YAAKOUBI¹, A. CHAHLAOUTI¹, M. RAHMANI², M. ELYACHIOUI³ et Y. OULHOTE²

RÉSUMÉ - A. Yaakoubi, A. Chahlaoui, M. Rahmani, M. Elyachioui et Y. Oulhote. **Effet de l'épandage des margines sur la microflore du sol.** *Agrosolutions* 20 (1) : 35-43. Les margines sont des eaux usées produites lors de la trituration des olives. Étant riches en matière organique (polyphénols, lipides, sucres, protéines...) et en sels minéraux de potassium, sodium et magnésium, elles peuvent augmenter les activités biologiques des sols et par conséquent leur fertilité. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets des différentes doses des margines utilisées sur l'évolution de la microflore du sol. Dans un essai au champ, nous avons évalué les effets de deux doses (10 et 20 l/m²) et d'un témoin sans amendement organique sur des sols cultivés en vigne. Des échantillons de sol ont été prélevés par carottage à différentes profondeurs (10-30 et 30-60 cm) et différents groupes microbiens ont ainsi été dénombrés lors d'un suivi de 4 mois (2 mois/an). Les résultats obtenus montrent que l'épandage des margines a engendré une augmentation de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) du sol, en particulier dans la couche supérieure du sol (10-30 cm), en comparaison avec le témoin. Au niveau de la couche profonde du sol (30-60 cm), cette flore a tendance à suivre la même évolution que celle du témoin. Cette évolution croissante de la FMAT pourrait être expliquée par l'enrichissement du milieu en azote minéral par les aérobies d'azote qui s'activent également suite à l'épandage des margines et par le C soluble apporté. Il ressort que l'épandage contrôlé des margines pourrait donc servir de substrat pour accroître la FMAT du sol. Les groupes de moisissures et de levures qui semblent être adaptées à l'acidité des margines ont également été accrus suite à l'application de ces substrats organiques. De plus, leurs apports au sol ont augmenté le potentiel de sa respiration microbienne, par rapport au témoin. En outre, l'apport des margines après 10 jours a engendré une augmentation remarquable du % de la matière organique et des polyphénols dans la couche supérieure du sol par rapport au témoin. Mais cette augmentation tend à s'estomper après 60 jours. En effet, en deux mois, le % de la matière organique est passé de 1,78 à 1,67 % et de 1,85 à 1,79 % respectivement pour les deux traitements T₁ (10 l/m²) et T₂ (20 l/m²), ce qui correspond à un abattement de 0,11 et 0,06 %

respectivement. Pour les composés phénoliques, il est passé de 151 à 98 ppm et de 248 à 146 ppm respectivement pour les deux traitements, ce qui correspond à un abattement de 65 et 58,87 % respectivement. Ce résultat montre que ce sont les microorganismes du sol qui sont responsables de la dégradation des composés phénoliques. Cette biodégradation est favorisée par le pouvoir tampon élevé du sol (pH légèrement alcalin) et/ou une amélioration de l'aération. Au niveau profond (30-60 cm), les microorganismes ont suivi la même évolution mais avec des populations très faibles. Par conséquent, l'épandage des margines a favorisé la microflore du sol et son activité; elles constituent donc un bon amendement organique des sols.

Mots clés : margines, épandage, sol, microflore, activité respiratoire, biodégradation.

ABSTRACT - A. Yaakoubi, A. Chahlaoui, M. Rahmani, M. Elyachioui and Y. Oulhote. **Impacts of olive mills wastewater spreading on soil microflora.** *Agrosolutions* 20 (1): 35-43. The olive oil mills produce a liquid effluent referred to as olive mill wastewater (OMW). Being rich in organic matter (polyphenols, lipids, sugars, proteins...) as well as in mineral salts of potassium, sodium and magnesium. This material is susceptible to increase biological activity of soils and consequently their fertility following its spreading on agricultural land. The aim of this study was to evaluate the impact of different rates of application of OMW (0 l/m², 10 l/m² and 20 l/m²) on soil microflora, in a field experiment on grapevines. Soil samples were collected from two depths (10-30 cm and 30-60 cm) and various groups of bacteria were identified for up to four months of follow up (2 months/ year). The obtained results showed that using OMW as a soil fertilizer increased total aerobic mesophilic flora (TAMF), especially in the soil upper layer (10-30 cm). Whereas in the deepest layer (30-60 cm) of the soil, this microflora showed the same evolution pattern as that observed for the check treatment. Enrichment in TAMF might be explained by the increase of mineral nitrogen content of the soil following the activation of the ammonifying bacteria and the increase in soluble C

1. Laboratoire de biochimie et de pharmacognosie, Département de biologie, Faculté des sciences, Université Moulay Ismail BP 11 201 Zitoune Meknès Maroc.

*Auteur pour la correspondance : téléphone : 212 5 35 53 88 70, télécopieur : 212 5 35 53 68 08, courriel : elyaakoubia@gmail.com

2. Département des Sciences alimentaires et nutritionnelles, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, B.P 6202, Rabat, Maroc.

3. Laboratoire de biotechnologie, Environnement et qualité, Faculté des sciences de Kenitra, B.P 133, 14000 Kenitra, Maroc.

resulting from OMW spreading. It was concluded that OMW spreaded under controlled conditions, may serve as a good substrate for TAMF in the soil. Moulds and yeasts were also increased by the application of this organic substrate. Moreover, it contributed to increase the potential of soil microbial respiration, compared to the check treatment. The organic matter (including polyphenols) content in the soil upper layer (10-30 cm) was measured as soon as 10 days after spreading in the two treatments (T_1 : 10 l/m² and T_2 : 20 l/m²) and compared to the 0 addition treatment content. The increase measured tended to slow down after 60 days. In fact, after 2 months, the content in organic matter slightly decreased from 1.78 to 1.67% and from 1.85 to 1.79% respectively for the treatments T_1 and T_2 ; which corresponded to reductions of 0.11 and 0.06% respectively. For phenolic compounds, their contents went from 151 to 98 ppm and from 248 to 145 ppm respectively for treatments T_1 and T_2 , and represented reductions of 65 and 58.9% respectively. These results indicated that soil microorganisms were involved in the degradation of phenolic compounds. Such degradation was influenced by the high soil buffer capacity (pH slightly alkaline) and/or by an improvement of its aeration. For the deepest soil layer (30-60 cm), the count of microorganisms followed the same trend but with smaller variations. Consequently, OMW spreading increased soil microflora and its activity and could be considered as a good organic fertilizer.

Key words: Olive mill wastewater (OMW), spreading, soil, respiratory activity, biodegradation.

Introduction

Les margines sont des eaux de végétation qui sont générées lors de l'extraction de l'huile d'olive vierge. Ce sont des effluents riches en matière organique (composés phénoliques, lipides, sucres, protéines...) et en sels minéraux (potassium, sodium, magnésium...). Ces margines sont souvent épandues de manière incontrôlée sur les sols agricoles ou stockées dans les cuvettes, exposant ainsi les systèmes eau-sol-plante à une pollution inéluçable. Les traitements physico-chimique et biologique

des margines, qui consistent à réduire leur impact sur les ressources en eau, restent encore insuffisants et coûteux. Dans le souci de réduire les coûts de ces traitements et de rationaliser la gestion des margines rejetées, nous avons procédé à un essai d'épandage de ces margines sur un sol cultivé en vigne. L'utilisation de cet effluent à des fins agricoles est la voie de valorisation envisagée par ce présent travail compte tenu de sa richesse en éléments fertilisants (Morisot, 1979; cité par Nefzaoui, 1999) et leur stimulation du développement de la microflore du sol (Aissam et al., 2002; El Hassani et al., 2005). Compte tenu de leur composition d'eau (83,2 %), de matière organique (15 %) et de minéraux (1,8 %) (Fiestas Ros De Urinos, 1981; cité par Nefzaoui, 1999), les margines suscitent l'intérêt des agriculteurs. De par leur teneur élevée en minéraux, les margines peuvent être utilisées comme fertilisant. Selon Fiestas Ros De Ursinos (1986) et Nefzaoui (1987), elles apportent au sol 3,5 à 11 kg de K₂O; 0,6 à 2 kg de P₂O₅ et 0,15 à 0,5 kg de MgO par m³. L'apport moyen en éléments fertilisants sur la base d'un épandage de 100 m³/ha/an des margines sur un sol cultivé avec l'olivier est normal en magnésie, élevé en phosphore, très élevé en potasse et variable en azote (Cadillon M. et al., 1988). En outre, Morisot (1979) renvoie à une étude détaillée pour connaître l'évolution des sols arrosés avec de la margine et ses effets sur l'olivier. Cette étude montre que les doses de 100 m³/ha/an ne provoquent pas de changements défavorables qui s'expliquent par l'absence d'effets toxiques sur la microflore du cycle de l'azote; l'enrichissement significatif en potassium et l'absence de modifications des teneurs foliaires de l'olivier. Par contre, les doses équivalentes à 400 m³/ha/an provoquent, sur les graminées en pot, des pertes de rendement de l'ordre de 50 %. Il recommande aussi l'utilisation de 30 et 100 m³/ha de margines (système classique ou en continu, respectivement). D'un autre côté, d'autres auteurs (Cadillon et al., 1987; Marsilio et al., 1990) indiquent que l'épandage des margines sur les terres agricoles (même à des doses relativement élevées) n'entraîne pas de risques ou de problèmes particuliers et qu'il n'y a pas de danger de pollution de la nappe souterraine.

Selon Vitagliano et al., (1975), Morisot (1979) et Janer Del Valle (1980), le contenu organique des margines améliore le développement des microorganismes du sol qui se traduit par une amélioration de ses caractéristiques physiques et chimiques. Ces enrichissements justifient l'intérêt de la valorisation agricole des margines qui peut correspondre soit à une fumure de fond, soit à une fumure d'entretien et qui peut s'effectuer par épandage sur le sol soit directement, soit après stockage.

Di Giovacchino et al. (1996) ont montré que les effets de l'épandage des margines sur les sols cultivés avec des céréales et du maïs à des doses de 25 à 100 m³/ha étaient réguliers et comparables à ceux des essais témoins. L'épandage des margines, à des doses supérieures à 30 l/m², s'est traduit par une augmentation notable des rendements de récolte sans entraîner d'effets sur les caractéristiques du maïs et du jus de raisin obtenus (Catalano et De Felice, 1989; Di Giovacchino et al., 1996 et 2001; Rinaldi et al., 2002; Marsilio et al., 2006). Des essais d'épandage de margines sur des oliviers ont montré que la production d'olives (kg/arbre) et la circonférence du tronc (cm) augmentent d'une façon considérable après l'épandage (Catalano et al., 1985; Proietti et al., 1988; Marsilio et al., 1990; Lombardo et al., 1993; Briccoli Bati et al., 2002; Rinaldi et al., 2002; Marsilio et al., 2006).

Ben Rouina et al., (2008) ont testé l'utilisation agricole des margines brutes en vergers d'oliviers et en ont conclu que leur épandage annuel dans des conditions bien définies (doses et périodes d'épandage) s'accompagne d'une amélioration des propriétés physico-chimiques du sol, de sa capacité de rétention en eau et de son activité biologique.

Selon El Hassani et al. (2005), l'épandage des margines a généralement engendré une augmentation des abondances des différents groupes microbiens recherchés. En effet, la flore mésophile aérobie totale (FMAT) a présenté une évolution gaussienne des abondances. Les groupes de champignons et de levures qui ont présenté des évolutions à tendances similaires ont montré une importante multiplication en présence des margines. Avec la dose de 8 l/m², l'effectif du groupe des ammonifiants augmente. Ces

microorganismes interviendraient dans la minéralisation de l'azote organique contenu dans la margine. Les aérobies d'azote s'activent également suite à l'épandage des margines. Ces microorganismes enrichissent le milieu d'azote minéral et améliorent donc la fertilité du sol. Les dénitrifiants qui assurent la transformation de l'azote minéral en azote de l'air n'abondent qu'au bout du troisième mois après l'épandage.

El Hassani *et al.*, (2005) et Di Serio *et al.*, (2008) ont également montré que l'épandage des margines avec des doses de 8 et 16 l/m² sur des parcelles cultivées de maïs a généralement engendré une augmentation de la flore microbienne du sol.

En Tunisie, Abichou *et al.*, (2008) considèrent que l'épandage de quantités de margines allant de 100 à 200 m³/ha pendant 6 années successives sur un sol sableux planté d'oliviers a permis une amélioration de la structure du sol par l'agrégation de la terre fine, une amélioration de la capacité de rétention en eau et la création d'un mulch qui s'oppose à l'évaporation de l'eau. L'apport de matières organiques correspond à l'entrée d'un grand nombre de molécules carbonées dans le sol. Celles-ci peuvent modifier la stabilité structurale soit directement (par action physico-chimique directe) avec les particules du sol (facteurs abiotiques), soit indirectement, au cours de la décomposition de la matière organique apportée par les microorganismes du sol (facteurs biologiques) qui sont à leur tour activés par le sucre (source d'énergie) qui se trouve dans la margine.

Par ailleurs, les analyses microbiologiques des margines ont montré qu'elles sont exemptes des indicateurs de pollution fécale (coliformes) (Ranalli, 1991; Tamoh., 1992; Asehrou, 1993; Zanjari, 2000; Fadil, 2002). De ce fait, les margines ne présentent aucun risque sanitaire lors de leur réutilisation en agriculture sans aucun traitement préalable, même pour l'irrigation des cultures consommées à l'état cru. En effet, les directives proposées par l'OMS (1989) limitent la concentration des eaux usées en coliformes fécaux à 10 UFC/ml pour l'irrigation des produits destinés à la consommation à l'état cru. Donc, l'exploitation en agriculture des margines issues du système de centrifugation (à 3 phases)

pourrait être une excellente solution pour résoudre le problème de la pollution des margines.

D'un point de vue pratique, seule l'Italie a mis en place une série de réglementations concernant l'épandage de cet effluent sur les sols agricoles qui autorisent l'utilisation agronomique des margines à concurrence de 50 m³ par hectare et par an pour les effluents issus du système à pression et 80 m³/ha/an pour ceux issus du système continu à 3 phases (Tamburino *et al.*, 1999).

L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'impact de l'épandage des margines sur le développement de la microflore du sol cultivé en vigne, à différentes profondeurs (10-30 cm et 30-60 cm).

Matériel et méthodes

L'essai a été réalisé dans un champ expérimental cultivé en vigne installé dans le domaine Mellahi, d'une superficie de 8 ha, situé dans la région de Meknès/Maroc. Trois traitements ont été appliqués, soit une dose de 10 l/m², une de 20 l/m² et un témoin. Les traitements étaient répétés deux fois pendant deux campagnes oléicoles (2005-2006 et 2006-2007). L'épandage des margines a été réalisé par une citerne portant un système de pulvérisation et un dispositif de réglage de débit.

Échantillonnage

Margines

Les échantillons de margines ont été prélevés au niveau d'une unité industrielle (système à 3 phases), située dans la région de Meknès (Domaine Zouina AGOURAY), en pleine campagne oléicole 2005-2006 et 2006-2007. Les échantillons étaient prélevés à partir du bassin de stockage des margines, transportés dans des bidons de 5 litres et stockés à 4 °C; l'analyse a été réalisée dès réception au laboratoire.

Sol

Origine et caractéristiques du sol utilisé

Les échantillons du sol ont été prélevés d'un champ de vigne de la région de Meknès. Trois échantillons ont été prélevés le long de la diagonale de la parcelle élémentaire (plan expérimental de l'essai). Les échantillons ont été prélevés dans les 10 à 30 premiers cm de profondeur (échantillon 1) et dans les 30 à 60 cm de profondeur (échantillon 2). Le nombre total des échantillons est donc de 6 par parcelle élémentaire. La même procédure a été réalisée pour toutes les 9 parcelles élémentaires.

Afin de garantir la représentativité du terrain sujet des prélèvements, l'homogénéité de l'échantillon à analyser est essentielle pour évaluer l'effet de l'épandage des margines sur les terres cultivées. Les échantillons d'une même parcelle provenant de la même profondeur étaient mélangés entre eux. Après mélange des échantillons d'une même profondeur, nous avons prélevé un échantillon de terre d'environ un kilogramme qui était destiné aux analyses.

Les échantillons prélevés ont été bien effrités et bien mélangés dans un seau. Un kilogramme de sol est pris et mis dans un sachet en plastique avec une étiquette portant la référence de l'échantillon. Ce dernier a été maintenu au frais (4 °C) avant d'être analysé. Une fiche de renseignements accompagne l'échantillon et comporte les informations nécessaires pour son identification (parcelle, période de prélèvement et traitement).

Le prélèvement de ces échantillons du sol a été réalisé en trois périodes, lors de deux campagnes oléicoles (2005-2006 et 2006-2007) :

1^{ère} période : Avant l'épandage des margines (témoin);

2^e période : Dix jours après l'épandage des margines;

3^e période : Deux mois après l'épandage des margines.

Tableau 1. Caractéristiques granulométriques du sol.

Profondeur du sol (cm)	Argiles %	Limens		Sables	
		Limons fins %	Limons grossiers %	Sables fins %	Sables grossier %
10 - 30	28,80	22,20	10,25	16,83	21,92
30 - 60	34,67	25,52	6,65	11,23	21,90

Les principales caractéristiques granulométriques du sol utilisé sont indiquées au tableau 1. Il s'agit d'un sol argilo-limonosableux dont l'argile prédomine.

Plan expérimental de l'essai

T₀ : Témoin

T₁ : 10 l/m² de margines

T₂ : 20 l/m² de margines

NB : Lors de la période d'essai, il n'y avait pas d'apport de fertilisants standards dans les parcelles utilisées.

Partie expérimentale

Caractérisation des margines

Le pH est mesuré au moyen d'une électrode de verre d'un pH-mètre. La matière sèche totale a été déterminée après séchage à 105 °C. Les phénols totaux ont été déterminés par la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Macheix et al., 1990). L'extraction de l'huile résiduelle contenue dans la matière sèche des margines a été déterminée par l'hexane à une température de 40 à 60 °C au moyen d'un appareil de Soxhlet (Di Giovacchino, 1986).

À noter que les margines destinées à l'épandage sur les terres agricoles doivent être exemptes de matière grasse. Sinon, il y aura un risque de colmatage du sol et par conséquent absence d'aération, ce qui se répercutera négativement sur l'activité microbienne du sol. Pour cette raison, nous avons choisi préalablement les margines issues de système de centrifugation (système continu où les margines passent par une centrifugeuse pour réduire au maximum leur teneur en huile résiduelle avant leur évacuation dans les bassins de stockage).

Analyses microbiologiques du sol

Les analyses microbiologiques du sol ont porté sur la flore mésophile aérobie totale (FMAT), les champignons et les levures.

Flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Préparation de la suspension

À 10 g du sol, nous avons ajouté 90 ml d'eau distillée stérile. Cette suspension est

soumise à une agitation et ensuite à des dilutions jusqu'à 10⁻⁵.

Ensemencement des boîtes de Pétri :

Le milieu utilisé est le nutriment Agar (28 g de gélose nutritive et 5 g d'agar) prêt à l'emploi. Chaque dilution (0,1 ml) est ensemencée en surface puis étalée dans trois boîtes de Pétri. Ces boîtes étaient incubées à 25 °C, avec alternance d'obscurité et de lumière pendant 48 heures.

Le comptage a été effectué par une approche statistique basée sur une série de dilutions successives. Pour l'interprétation des résultats, nous n'avons tenu compte que des boîtes qui contiennent un nombre comptable de colonies séparées. Nous avons calculé la moyenne des essais effectués avec la même dilution. Les résultats sont exprimés en unités formant colonies (UFC) par gramme de sol.

Levures et moisissures

Le dénombrement des levures et moisissures a été réalisé sur un milieu Potato Dextrose Agar (PDA). Le dénombrement a été effectué après incubation à 30 °C pendant 3 jours pour les levures et 7 jours pour les moisissures.

Activité respiratoire du sol

La respiration du sol a été déterminée directement, sans ajout de substrat organique, selon la méthode d'Isermeyer (1952) par le biais de l'estimation des émissions de CO₂ évolué durant l'incubation du sol dans un système clos. Les molécules de CO₂ étaient piégées dans une solution de soude (NaOH) qui a été titrée par HCl. Les résultats sont exprimés en mg/kg de sol au bout de 24 heures.

Les moyennes et les déviations standards des résultats analytiques ont été calculées suivant une analyse de variance (ANOVA) des données.

Résultats et discussion

Les margines sont des effluents liquides générés par la fabrication de l'huile d'olive vierge, essentiellement durant les mois de novembre et de décembre. Ces effluents présentent les caractéristiques d'un bon fertilisant et leur valorisation en agriculture

constitue une excellente solution d'épuration et de valorisation (Proietti et al., 1995; Bonari et al., 1993; Ranali, 1991b). Il existe peu d'études sur l'impact de l'épandage des margines sur la composition microbienne du sol (Lombardo et al., 1988; Briccoli Bati et al., 1990; Marsilio et al., 1990; Cicolani et al., 1992; Picci et Pera, 1993). De ce fait, nous avons procédé à un essai d'épandage des margines dans le but d'évaluer leur effet sur différents groupes microbiens du sol.

Les résultats des analyses microbiologiques du sol traité par les margines du système à 3 phases montrent qu'il y a une évolution croissante des différents groupes microbiens du sol par rapport au témoin. En effet, la flore mésophile aérobie totale (FMAT) du sol a subi une augmentation significative, en particulier au niveau de la couche supérieure du sol (10-30 cm), suite à l'apport des margines avec les différentes doses (Figure 1). La dose de 10 l/m² de margines a permis de multiplier le nombre d'individus par 1,5 après dix jours et par 1,7 après deux mois de l'épandage, par rapport au sol témoin. Tandis que la dose de 20 l/m² a multiplié le nombre d'individus par 1,6 après dix jours et par 1,5 après deux mois de l'épandage. Cette évolution croissante de la FMAT pourrait être expliquée par l'enrichissement du milieu en azote minéral par les aérobies d'azote qui s'activent également suite à l'épandage

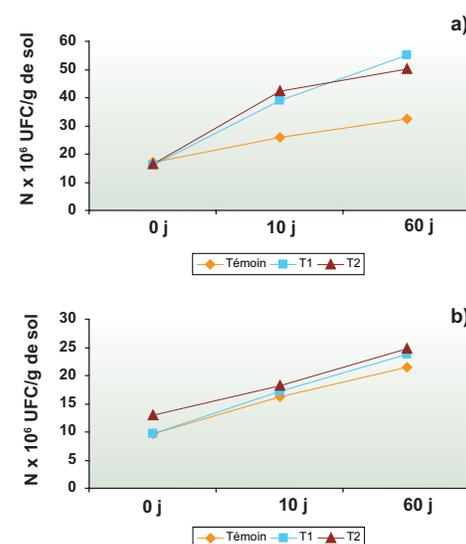


Figure 1. Évolution de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) au niveau des différentes couches de sol (a) et (b)

(a) : 10 - 30 cm (b) : 30 - 60 cm

Tableau 2 : Caractérisation des margines de centrifugation de la région de Meknès

Paramètres	Système de centrifugation (système à 3 phases)
pH	4,87
MST (%)	6,54
Huile résiduelle (g/l)	1,46
Polyphénols totaux (g d'acide caféique/l)	6,30

Tableau 3: Caractéristiques chimiques du sol avant et après l'épandage des margines

	Sol témoin	Sol traité par les margines			
		Doses			
		10 l/m ²		20 l/m ²	
		I (*)	II (**)	I	II
10 - 30 cm					
pH	7,82	7,76	7,70	7,68	7,61
Matière organique (%)	1,51	1,78	1,67	1,85	1,79
Polyphénols totaux (mg d'acide caféique/100 g PS)	1,94	15,1	9,8	24,8	14,6
30 - 60 cm					
pH	7,4	7,1	7,3	7,79	7,65
Matière organique (%)	1,46	1,65	1,58	1,74	1,62
Polyphénols totaux (mg d'acide caféique/100 g PS)	0,97	4	3,7	4,98	4,7

I (*) : 10 jours après l'épandage des margines

II (**): 60 jours après l'épandage des margines

des margines (Marsilio et al., 1990; Proietti et al., 1995; Di Giovacchino et al., 2005; Ben Rouina et al., 2005; El Hassani et al., 2005; Di Serio et al., 2008) et par le C soluble également apporté. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par d'autres auteurs (Marsilio et al., 1990) qui ont réalisé des essais sur la culture de l'olivier, avec une dose de 160 m³/ha.

Nos résultats ont permis de montrer l'influence bénéfique de l'emploi des margines sur ces micro-organismes. Le nombre d'individus par gramme de terre a été multiplié par 2,5 après 15 jours et par 2,3 après 100 jours par rapport au sol témoin. Cette augmentation de la microflore totale s'est traduite par une accentuation de l'activité respiratoire du sol de plus 100 %. Toutefois, une légère diminution de la population microbienne totale a été enregistrée au bout de 60 jours dans les parcelles traitées par la dose de 20 l/m² (Figure 1) et pourrait être due à l'épuisement du C soluble nécessaire pour le métabolisme de la microflore ou à l'effet létal de la dose élevée. En outre, après 10 jours, l'apport des margines a engendré une augmentation remarquable de la teneur en matière organique et en composés polyphénoliques

dans la couche supérieure du sol par rapport au témoin. En effet, le % de la matière organique passe de 1,51 (T₀) à 1,78 et à 1,85 % respectivement pour T₁ et T₂ (Tableau 3). Pour les composés phénoliques, il passe de 19,4 (T₀) à 151 et à 248 ppm respectivement pour les deux traitements (T₁ et T₂) (Tableau 3), mais il tend à s'estomper après 60 jours. En effet, en deux mois, le % de la matière organique passe de 1,78 à 1,67 % et de 1,85 à 1,79 % respectivement pour les deux traitements T₁ (10 l/m²) et T₂ (20 l/m²), ce qui correspond à un abattement de 0,11 et 0,06 % respectivement. Pour les composés phénoliques, il passe de 151 à 98 ppm et de 248 à 146 ppm respectivement pour les deux traitements (T₁ et T₂) (Tableau 3), ce qui correspond à un abattement de 65 et 58,87 % respectivement. Ce résultat montre que ce sont les microorganismes du sol qui sont responsables de la dégradation des composés phénoliques. En effet, en dépit d'un pH acide des margines (4,87) (Tableau 2), le pH du sol demeure pratiquement inchangé (pH neutre ou légèrement alcalin (7,61-7,82) (Tableau 3), comparativement au témoin indépendamment de la dose utilisée; ce qui favorise donc la microflore du sol en réduisant le pouvoir antimicro-

bien des composés phénoliques. Ce résultat est en accord avec Medeci et al. (1985) qui ont montré qu'à un pH neutre ou légèrement alcalin (7,4-7,6), ces composés phénoliques passent sous forme de phénates et perdent une grande partie de leur pouvoir antimicrobien. Les microorganismes peuvent alors les utiliser comme nutriments carbonés et énergétiques (Borja et al., 1995). Par ailleurs, Dommergues (1971) a montré que la biodégradation des composés phénoliques par les bactéries du sol peut être accélérée par une élévation du pH et/ou une amélioration de l'aération. Ben Rouina et al. (1999) ont aussi montré que la fertilité du sol a été améliorée par l'apport des margines, notamment au niveau des teneurs en matière organique et en potassium.

Au niveau profond (30 à 60 cm), le % de la matière organique et des polyphénols suit la même évolution mais avec des teneurs très faibles. Ce qui démontre que la matière organique et les polyphénols étaient retenus au niveau de la couche supérieure du sol. Ceci s'explique par le fait que le sol utilisé avait une texture argilo-limonosableux où l'argile, qui représente l'élément majeur, lui confère un pouvoir de rétention très élevé. Ce qui explique la légère migration des polyphénols enregistrée au niveau de la couche profonde (30 - 60 cm).

D'un autre côté, nous avons enregistré une

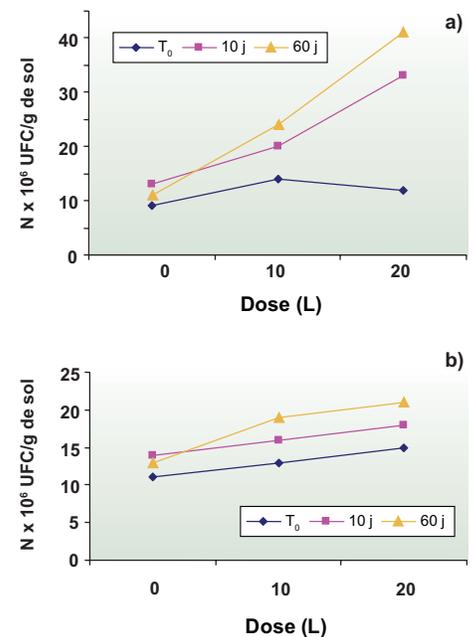


Figure 2. Évolution des champignons au niveau des différentes couches de sol (a) et (b)
(a) : 10 - 30 cm (b) : 30 - 60 cm

augmentation plus significative des champignons et des levures, en particulier dans la couche supérieure du sol (10-30 cm), suite aux apports des margines (Figures 2 et 3). Cette augmentation était plus remarquable pour la dose 20 l/m² que celle de 10 l/m². Ceci pourrait être expliqué par le fait que les moisissures et les levures du sol semblent être plus adaptées à l'acidité des margines (Tamoh, 1992; Mouncef, 1993, 2002; Fadil, 2002; El Hassani *et al.*, 2005). Par contre, dans la couche 30-60 cm, l'épandage des margines sur le sol n'a enregistré aucun effet significatif sur la microflore du sol; l'évolution de la charge microbienne du sol traité par les margines étant la même que celle du sol témoin. Ceci est en accord avec la littérature (Lombardo *et al.*, 1988; Marsilio *et al.*, 1990; Tomati, 1992) qui rapporte que l'épandage des margines sur le sol a montré un effet positif sur les populations de champignons, d'actinobactéries, de bactéries fixatrices d'azote atmosphérique et de bactéries cellulotiques du sol. Dans le même sens, les travaux réalisés par Ben Rouina *et al.* (1999) ont montré que l'application des margines sur des jeunes oliviers en pots, avec des doses croissantes (0, 2, 4, 6 et 8 litres/pot) pendant deux années, a permis une activité microbienne intense et une abondance relative de fixateurs d'azote.

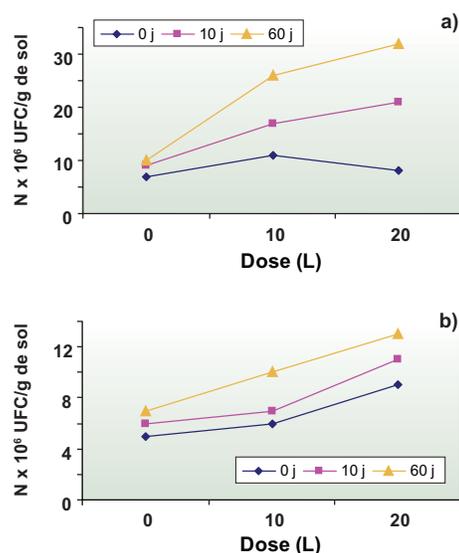


Figure 3. Évolution des levures au niveau des différentes couches de sol (a) et (b)
a) : 10 - 30 cm (b) : 30 - 60 cm

Les principaux paramètres qui caractérisent la qualité microbiologique du sol sont l'activité respiratoire et la capacité de la biomasse microbienne du sol dans la décomposition de la matière organique (minéralisation de substrat). Le traitement du sol avec les margines a entraîné une augmentation proportionnelle de l'activité respiratoire avec les doses utilisées par rapport au sol témoin, en particulier dans la couche supérieure du sol (10-30 cm) (Figures 4 et 5). La respiration du sol était fortement corrélée avec la décomposition de la matière organique dans le sol (Figure 6, Tableau 3). Ceci est en accord avec les résultats rapportés par Levi-Menzi *et al.* (1992) qui ont signalé qu'un délai de deux mois après l'épandage des margines, était largement suffisant pour réduire les teneurs élevées du C soluble, des phénols et des acides volatiles observés à la suite de l'épandage. En outre, l'augmentation de l'activité respiratoire du sol traité peut être expliquée par le fait que les margines utilisées n'apportent qu'une teneur très faible teneur en matière sèche totale et en huile résiduelle (Tableau 2).

D'après ces travaux, nous pouvons déduire que l'augmentation de la biomasse microbienne dans le sol après l'épandage des margines peut s'expliquer par l'apport de matières fortement fermentescibles et par la meilleure aération du sol.

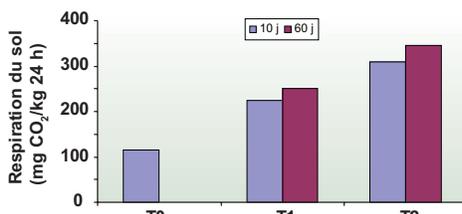


Figure 4. Activité respiratoire du sol dans la couche supérieure (10 - 30 cm)

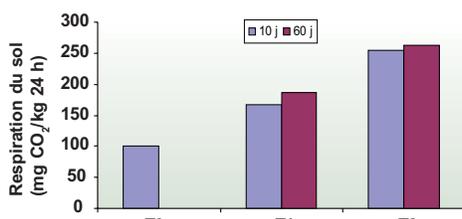


Figure 5. Activité respiratoire du sol dans la couche profonde (30 - 60 cm)
T₀ : 0 l/m²; T₁ : 10 l/m²; T₂ : 20 l/m²

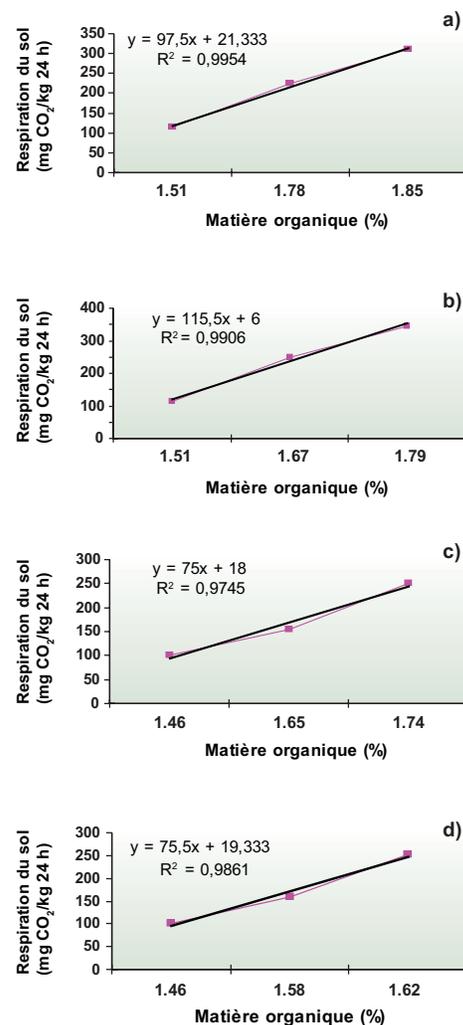


Figure 6. Corrélation entre la matière organique et l'activité respiratoire du sol :
(a) et (b) : couche supérieure (10-30 cm);
(c) et (d) : couche profonde (30-60 cm);
(a) et (c) : 10 jours après l'épandage des margines;
(b) et (d) : 60 jours après l'épandage des margines.

Conclusion

Les résultats de cette expérience montrent que l'épandage des margines avec des doses de 10 et 20 l/m² favorise la microflore du sol. Le pourcentage de la matière organique du sol traité après 10 jours, a subi une évolution croissante au niveau de la couche supérieure. Mais cette augmentation a tendance de s'estomper après 60 jours à cause d'une biodégradation en produits ayant des caractéristiques humiques. Par contre, au niveau de la couche inférieure, aucun effet de l'apport des margines n'a été enregistré. Ceci pourrait être expliqué par le fait que la matière organique est retenue au niveau de la

couche supérieure grâce au pouvoir élevé de rétention du sol argileux. La concentration des phénols totaux au niveau de la couche supérieure du sol a subi également une augmentation considérable pour les deux traitements T_1 et T_2 . Par contre, 2 mois après l'épandage, une diminution remarquable des phénols totaux a été enregistrée par rapport aux valeurs enregistrées après 10 jours. Cette diminution est due à une biodégradation lente par la microflore du sol. Cette biodégradation des phénols immobilisés au niveau de la couche supérieure du sol est favorisée par le pH neutre et l'aération. En revanche, dans la couche inférieure du sol, la teneur en phénols totaux reste très faible pour les deux traitements T_1 et T_2 . Il en ressort que la majeure partie des phénols est retenue au niveau de la couche supérieure du sol et qu'une légère migration des phénols a eu lieu vers la couche inférieure.

D'un autre côté, l'activité respiratoire du sol traité par les margines augmente d'une façon proportionnelle avec les doses utilisées. Ce qui explique la corrélation étroite entre l'émission de CO_2 et la dégradation de la matière organique (y compris les polyphénols) apportée par les margines.

Par conséquent, l'utilisation des margines issues du système de centrifugation à 3 phases par épandage sur un sol argileux, a favorisé la microflore du sol et montre qu'elles constituent un excellent ferti-irrigant naturel sans risque de colmatage du sol ou contamination de la nappe phréatique.

Remerciements

Le travail de recherche ayant donné lieu à la présente publication a été financé par les fonds du projet CFC/IOOC/04. Nous remercions A. El Mallahi, pour la mise à notre disposition des parcelles expérimentales.

Référence

- Abichou, M., M. Labiadh, B Rouina B., H. Taamallah, H. Khattali, W. Cornelis and D. Gabriels. 2008. Fabrication du compost de grignon d'olives. In: Actes séminaire national valorisation agronomique des sous produits de l'olivier (Tunis), 33-39.
- Aissam, H., F. Errachidi, M. Merzouki, M. Benlemlih. 2002. Identification des levures isolées des margines et étude de leur activité catalase. Cahiers de l'Association scientifique européenne pour l'eau et la santé, 7, 23-30.
- Asehrou, A. 1993. Étude physico-chimique et microbiologique des olives vertes crues et en fermentation et des olives noires. Thèse de 3e cycle. Université Cadi Ayad, Faculté des sciences Semlalia, Marrakech (Maroc).
- Ben Rouina, B., H. Taamallah and E. Ammar. 1999. Vegetation water used as a fertilizer on young olive plants. Acta Horticulturae 474 (1) : 353-355.
- Ben Rouina, B., A. Mekki et S. Sayadi. 2005. La gestion des effluents liquides des huileries: étude de l'effet de l'épandage direct des margines sur le sol et la plante en oliveraie. Meda water international conference on sustainable water management, Regional water use, wastewater treatment and reuse, RUWTR 06, 8-9 June 2006, Marrakech, Morocco.
- Ben Rouina, B., K. Gargouri, H. Ben Taher, M. Abichou, M. Ayadi, A. Ouled Amor, S. Jilani, N. Soua et A. Jribi. 2008. L'épandage des margines fraîches sur les terres agricoles. In: Actes séminaire national valorisation agronomique des sous produits de l'olivier (Tunis), 9-17.
- Bonari, E., M. Macchia, L.G. Angelini and L. Ceccarini. 1993. The waste waters from olive oil extraction: their influence on the germinative characteristics of some cultivated and weed species. Agricoltura Mediterranea 123, 273-280.
- Borja, R., J. Alba, S.E. Garrido, L. Martinez, M.P. Garcia, C. Incerti and A. Ramos-Cormenzana. 1995. Comparative study of anaerobic digestion of olive mill wastewater (OMW) and OMW previously fermented with *Aspergillus terreus*. Bioprocess Eng., 13, 317-322.
- Bricoli-Bati, C. and N. Lombardo. 1990. Effects of olive oil waste water irrigation on young olive plants. Acta Horticulturae Vol. 286 : 489-491.
- Briccoli Bati, C., N. Lombardo, C. Ciliberti, A. Gamba, C. Piovaneli. 2002. Utilizzo in pieno campo dei reflui oleari. Influenza sul comportamento vegeto-produttivo di piante di olivo. Agricoltura Ricerca 187, 69-72.
- Cadillon, M. et L. Tremea. 1987. La valorisation agricole des margines, recommandations pour l'épandage. Communication SCP présentée à une réunion du 24 juin 1987, journée organisée par l'union syndicale interprofessionnelle oléicole.
- Cadillon, M. et L. Tremea. 1988. Valorisation agricole des margines - Impact sur les eaux souterraines, compostage, stockage des margines. Commune de Maussane (Rapport SCP).
- Catalano, M., T. Gomes, M. De Felice, T. De Leonardis. 1985. Smaltimento delle acque di vegetazione dei frantoi oleari. Inquinamento 2, 87-90.
- Catalano, M., M. De Felice. 1989. Utilizzazione delle acque reflue come fertilizzante. In: Proceedings of International Symposium "Tecnologie e impianti per il trattamento dei reflui dei frantoi oleari", Lecce, Italy, vol. 1, p. 251-262.
- Cicolani, B., L. Seghetti, S. D'Alfonso, L. Di Giovacchino. 1992. Vegetation water spreading on land under wheat cultivation: effects on invertebrate communities. In: Proceedings of the International Conference on Treatment and Reutilization of Farm Effluents and Sludges, Lecce, Italy, p. 467-477.
- Di Giovacchino, L. 1986. La determinazione dell'olio contenuto nell'acqua di vegetazione delle olive. La rivista Italiana delle Sostanze Grasse 63, 203.
- Di Giovacchino, L., L. Seghetti. 1990. Lo smaltimento delle acque di vegetazione delle olive su terreno agrario destinato alla coltivazione di grano e mais. L'Informatore Agrario 45, 58-62.
- Di Giovacchino, L., C. Basti, N. Costantini, M.L. Ferrante, M. De Angelis. 1996. Risultati di esperienze pluriennali di spargimento di acque di vegetazione delle olive sul terreno agrario. In: Proceedings of Conference on L'utilizzo dei residui dei frantoi oleari, Viterbo, Italy, p. 25-43.

- Di Giovacchino, L., C. Basti, N. Costantini, M.L. Ferrante, G. Surrichio. 2001. Effects of olive vegetable water spreading on soil cultivated with maize and grapevine. *Agricoltura Mediterranea* 131, 33-41.
- Di Giovacchino, L. 2005. Les eaux de végétation des olives : caractéristiques et utilisation rationnelle. *Olivae*, 104 : 55-63.
- Di Giovacchino, L., V. Marsilio, N. Costantini, M.G. Di Serio. 2005. Use of olive mill wastewater (OMW) as fertilizer of the agricultural soil: effects on crop production and soil characteristics. In: Proceedings of the Third European bioremediation conference, Chania, Greece, p. 165-169.
- Dommergues, Y. 1971. Interrelations sans caractère symbiotique entre la végétation et la microflore du sol: « l'effet litière ». La vie dans le sol : aspects nouveaux, études expérimentales. Gauthier - Villars édit., Paris, 423 - 471.
- Di Serio, M.G., B. Lanza, M.R. Mucciarella, F. Russi, E. Lannucci, P. Marfisi, A. Madeo. 2008. Effects of olive mill wastewater spreading on the physico-chemical and microbiological characteristics of soil. *International Biodeterioration & Biodegradation* 62 403-407.
- El Hassani, F.Z., S. Mdaghri Alaoui, F. Errachidi, H. Aissam, M. Merzouki, M. Benmlih. 2005. Effet de l'épandage des margines sur le rendement d'une culture de maïs et sur les abondances de certains groupes microbiens du sol. 3^e journées internationale des géosciences de l'environnement. El Jadida, Maroc.
- Fadil, K. 2002. Étude des margines de l'industrie oléicole de la ville de Meknès. Impact sur le milieu recepateur et essai de traitement. Thèse de doctorat national, Fac. Sc. Meknès Maroc.
- Fiestas Ros Do Ursinos, J.A. 1981. Depuración de aguas residuales en las industrias de aceitunas y aceites de oliva. *Grasas y aceites*. 28 : 113-121.
- Fiestas Ros Do Ursinos, J.A. 1986. Possibilities of using olive mill waste-water (alpechin), as a fertilizer. In: Proceedings of the International Symposium on Olive by-Products Valorization, p. 321-330. F.A.O.-U.N.D.P., Sevilla, Spain.
- Isermeyer, H. 1952. Eine einfache methode zur bestimmung der bodenatmung und der carbonate im boden. *Zeitschrift fuer Pflanzenernaehrung und Bodenkunde* 56, 26-38.
- Janer Del Valle, D.L. 1980. Contaminación de las aguas por el alpechin y posibles soluciones al problema. *Grasas y Aceites* 31, 273-279.
- Levi-Minzi, R., A. Saviozzi, R. Riffaldi, L. Falzo. 1992. Lo smaltimento in campo delle acque di vegetazione. Effetti sulle proprietà del terreno. *Olivae* 40, 20-25.
- Lombardo, N., C. Briccoli Bati, V. Marsilio, L. Di Giovacchino, M. Solinas. 1988. Prime osservazioni sugli effetti delle somministrazioni di acqua di vegetazione al terreno agrario. *Annali Istituto Sperimentale Olivicoltura* 10, 9-22.
- Lombardo, N., C. Briccoli Bati, V. Marsilio, L. Di Giovacchino. 1993. Comportamento vegeto-produttivo di un oliveto trattato con acque di vegetazione. In: Proceedings of the Meeting on Tecniche, norme e qualità in Olivicoltura. Potenza, Italy, p. 97-107.
- Macheix, J.J., A. Flauriet, J.A. Billot. 1990. Fruit phenolics. CRC Press Inc, Boca Raton Florida, 378 p.
- Marsilio, V., L. Di Giovacchino, N. Lombardo, C. Briccoli-Bati. 1990. First observations on the disposal effects of olive mills vegetation waters on cultivated soil. *Acta Hort.* 286:493-498.
- Marsilio, V., L. Di Giovacchino, N. Costantini, M.G. Di Serio, R. Vito. 2006. Effect of the olive mill wastewater (OMW) spreading for many years on olive trees and grapevine cultivations. *Olive biotech* 2006, In: Second International Seminar on Biotechnology and Quality of Olive Tree Products around the Mediterranean Basin. Marsala - Mazara del Vallo, Italy, vol. 2, p. 545-548.
- Medeci, F., C. Merli and E. Spagnoli E. 1985. Anaerobic digestion of olive mill wastewater, a new process. Anaerobic digestion and carbohydrates hydrolysis of waste. In Ferranti H., Ferrero M.P and Vaveau H. édit., 385 - 398, Elsevier Publ., London.
- Mouncif, M., S. Tamoh, M. Faid and B.A. Achkari. 1993. A study of chemical and microbiological characteristics of olive mill wastewater in morocco. *Grasas y Aceites*, 44: 335-338.
- Mouncif, M. 2002. Gestion intégrée de l'eau des huileries d'olives. Thèse de doctorat es sciences agronomiques. IAV Hassan II, Rabat.
- Morisot, A. 1979. Utilisation des margines par épandage. *L'Oliver* 19, 8-13.
- Nefzaoui, A. 1987. Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous produits. *Olivae*, 19 : 17-21.
- Nefzaoui, A. 1999. Olive tree by products. Ed. ICARDA, 124 p.
- O.M.S. 1989. L'utilisation des eaux usées en agriculture et en aquaculture : recommandation à visées sanitaires . *Rapp. Tech.* 778, p 82.
- Picci, G., A. Pera. 1993. Relazione su un triennio di ricerche microbiologiche sullo spargimento delle acque di vegetazione (AA.VV.) dei frantoi oleari su terreno agrario. *Genio Rurale* 5, 72-77.
- Proietti, P., A. Cartechini, A. Tombesi. 1988. Influenza delle acque reflue di frantoio oleari su olivi in vaso e in campo. *L'Informatore Agrario* 45, 87-91.
- Proietti, P., A. Paliotti, A. Tombesi, G. Cenci. 1995. Chemical and microbiological modifications of two different cultivated soils induced by olive oil waste water administration. *Agricoltura Moderna* 125, 160-171.
- Ranalli, 1991 b. Effluent des huileries d'olives : proposition en vue de son utilisation et de son épuration, référence aux normes italiennes en la matière (Ile partie), *Olivea*, 38, 26-40.

- Rinaldi, M., G. Rana, M. Introna. 2002.
Effetti dello spandimento dei reflui oleari
su colture erbacee ed arboree: un biennio
di sperimentazione. *Agricoltura Ricerca*
187, 55-64.
- Tamburino, V, S.M. Zimbone, P. Quattrone.
1999. Storage and land application of olive
oil wastewater. *Olivae* 76:36-45.
- Tamoh, S. 1992. Étude microbiologique des
eaux usées de végétation des margines
traditionnelles. Université chouaib Doukali.
Fac. SC.Eljadida Maroc.
- Tomati, U., E. Galli. 1992. The fertilizing value
of wastewaters from the olive processing
industry. Istituto di Radiobiocimica ed
Ecofisiologia Vegetali CNR, Roma (Italy).
Conference proceedings: Humus, its struc-
ture and role in agriculture and environ-
ment, Prague (CSFR), 19-23 Aug 1991,
Elsevier Amsterdam (Netherlands).
- Vitagliano, M., V.M. Pantaleo, M. Padula. 1975.
Una possibile utilizzazione delle acque di
vegetazione delle olive. In: Proceedings of
the V National Symposium on Conservazione
della natura, Bari, Italy, vol. 2, p. 243-254.
- Zanjari, B. 2000. Étude écotoxicologique des
effluents liquides des huileries de la ville
de Marrakech : Impact sur les milieux
récepteurs .Thèse de doctorat national
(C.E.A Science de l'eau : traitement et
valorisation des eaux usées). Faculté des
Sciences Semlalia - Marrakech, Maro.