



## Etude de quelques paramètres de croissance et biochimiques de l'olivier (*Olea europaea* L.) fertilisé par une boue d'épuration

## Study of some growth and biochemical parameters of the olive tree (*Olea europaea* L.) fertilized with sewage sludge

Mohamed Zouari<sup>1\*</sup>, Samir Aydi<sup>2</sup>, Ferjani Ben Abdallah<sup>3</sup>, Chedlia Ben Ahmed<sup>3</sup>, Nacim Zouari<sup>4</sup> & Bechir Ben Rouina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de l'Amélioration de la Productivité de l'Olivier et Qualité des Produits, Institut de l'Olivier, Université de Sfax, Sfax, Tunisie.

<sup>2</sup>Faculté des Sciences de Gabès, Université de Gabès, Gabès, Tunisie.

<sup>3</sup>Unité de recherche de Biodiversité Végétale et Dynamique des Ecosystèmes en Milieu Aride, Faculté des Sciences de Sfax, Université de Sfax, Sfax, Tunisie.

<sup>4</sup>Institut Supérieur de Biologie Appliquée de Médenine, Université de Gabès, Médenine, Tunisie.

### Article info

Histoire :

Reçu le 31 Mai 2021

Accepté le 09 Juillet 2021

Mot Clés : Olivier, boue d'épuration, croissance, perte d'électrolytes, polyphénols

\* Auteur correspondant

[mohamedzouari2@gmail.com](mailto:mohamedzouari2@gmail.com)

### Résumé

La présente étude montre un effet intéressant de l'enrichissement du sol avec 5% de boue d'épuration sur le comportement des jeunes plantes d'olivier. Ceci est constaté à travers une amélioration significative de la longueur de la tige principale. Par son apport en matières nutritives, la boue d'épuration (5%) a permis également une augmentation de la teneur des tissus foliaire en azote. Cependant, les doses de 10 et 15% engendrent l'augmentation de la teneur des indicateurs du stress (malondialdéhyde et perte d'électrolytes) et constituent par conséquent un signe révélateur d'un stress. Ceci pourrait être expliqué par la charge de la boue d'épuration en sels et en polluants.

### Article info

Article history:

Received 31 Mai 2021

Accepted 09 July 2021

Keywords: Olive tree, sewage sludge, growth, loss of electrolytes, polyphenols



Copyright©2021 JOASD

\* Corresponding author

[mohamedzouari2@gmail.com](mailto:mohamedzouari2@gmail.com)

**Conflict of Interest :** The authors declare no conflict of interest

### Abstract

The present study shows an interesting effect of soil enrichment with 5% sewage sludge on the behavior of young olive trees. In fact, a significant improvement in the length of the main stem is observed. By providing nutrients, the sewage sludge (5%) also increased the leaf nitrogen content. However, doses of 10 and 15% increase stress indicators in terms of malondialdehyde content and loss of electrolytes, which could be explained by the important level of salts and organic pollutants in sewage sludge.

### 1. INTRODUCTION

En Tunisie, 77,6% des terres sont arides marquées par une irrégularité des précipitations et une pauvreté en matière organique (Ministère de l'Agriculture et des Ressources Hydrauliques, 2018). Tous ces inconvénients limitent d'une

façon considérable la production agricole et par conséquent, il est important d'améliorer la fertilité des sols. Si le fumier constitue l'amendement organique traditionnel, l'augmentation des surfaces cultivées et leurs besoins en matières organiques fait que la production de fumier est insuffisante pour

restaurer et entretenir le stock humique des sols dégradés et cultivés. La Tunisie est l'un des pays à avoir connu une transformation significative du secteur oléicole. Les plantations tunisiennes représentent 20% de la superficie oléicole mondiale et la Tunisie compte également parmi les plus importants producteurs d'huile d'olive avec une part de 6% (IOC, 2018).

La valorisation agricole des boues issues du traitement des eaux usées contribue à la correction des carences minérales et à la régénération de la fertilité des sols pauvres, à travers la réintégration des éléments minéraux dans les sols (Passuello et al., 2012 ; Karlsons et al., 2016). Des études récentes ont montré que l'épandage des boues dans des parcelles agricoles ont permis d'augmenter significativement les rendements des cultures et d'améliorer la fertilité des sols (Silva et al., 2017).

Dans ce cadre, le présent travail a pour objectif l'étude de l'efficacité des apports de doses croissantes de boue d'épuration sur le développement des jeunes plantes d'olivier (*Olea europaea* L. var Meski) afin de déterminer la possibilité de son utilisation comme amendement organique voir comme engrais intéressant à recycler en agriculture.

## 2. MATERIEL ET METHODE

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est formé par des plantes d'olivier, issues de boutures semi-ligneuses et âgées d'un an. La variété employée dans ce travail est la variété Meski. Les jeunes plantes utilisées ont relativement la même croissance végétative. Le choix a été porté sur cette variété pour sa grande importance dans l'olivieraie tunisienne. C'est la variété d'olive de table la plus cultivée en Tunisie.

La boue d'épuration utilisée dans l'expérimentation, est une boue de la station d'épuration de Sfax-Sud (Tunisie). Elle a été stabilisée et séchée à l'air libre pendant six mois. Avant son épandage, la boue est broyée et tamisée.

Les plantes d'oliviers âgées d'un an ont été transplantées dans des pots en plastique d'une capacité de cinq litres et remplis de substrats constitués de : (i) sol prélevée du verger de l'Institut de l'Olivier (Sfax) et (ii) boue d'épuration.

Quatre traitements ont été appliqués à raison de cinq plantes (n = 5) par traitement. En effet, le premier traitement appelé témoin (T0) consiste

à cultiver les plantes d'olivier dans une terre végétale sans boue d'épuration. Les trois autres séries de traitement sont réalisées avec le même sol mais avec ajout de trois doses de boue qui sont : T1 (5%) ; T2 (10%) et T3 (15%). Le suivi de cette expérience a été étalé sur une période de 90 jours à partir du 1er février 2018. Les pots ont été placés dans les conditions naturelles de lumière et de température. La quantité d'eau apportée durant la période du traitement a été déterminée selon la méthode des doubles pesées. Le volume d'eau ajouté correspond donc à la quantité d'eau évapo-transpirée. Tous les paramètres étudiés ont été réalisés à la fin de l'essai expérimental.

### 2.2. Caractérisation du sol et de la boue d'épuration

Les échantillons du sol d'étude et de la boue ont été analysés selon les méthodes de Pauwels et al. (1992). Le pH (méthode potentiométrique à l'aide d'un pH-mètre), la conductivité électrique (CE) (méthode de la pâte saturée 1/5 à l'aide d'un conductimètre), la matière organique (MO) (méthode de Walkley et Black), l'azote (N) (méthode de Kjeldahl), le phosphore assimilable (P) (méthode Olsen), le potassium (K) échangeable (dosé par photométrie de flamme) ont été mesurés. Les résultats de cette caractérisation sont présentés dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Propriétés chimiques du sol d'étude et de la boue d'épuration.

Paramètres	Sol	Boue
pH	7,6 ± 0,21	6,16 ± 0,22
CE (mS/cm)	2,18 ± 0,28	7,01 ± 0,25
MO (%)	1,08 ± 0,13	27,25 ± 0,27
N total (%)	0,024 ± 0,00	2,18 ± 0,09
P assimilable (mg/kg)	11,50 ± 0,88	635,57 ± 17,48
K échangeable (mg/kg)	154,30 ± 12,03	377,12 ± 66,14

### 2.3. Analyses réalisées sur les jeunes plantes d'olivier

#### 2.3.1. Mesure de la croissance

La variation de la longueur de la tige principale des jeunes plantes d'olivier représente la différence de ce paramètre entre le début et la fin du traitement.

#### 2.3.2. Détermination de la teneur en azote total

Le dosage de l'azote est déterminé par la méthode Kjeldahl (Kjeldahl, 1883). Dans ce procédé, la matière organique azotée de

l'échantillon végétal est minéralisée par un mélange d'acide salicylique et d'acide sulfurique concentré à chaud en présence d'un mélange catalyseur. Ainsi, l'azote est transformé en ammoniac. Le distillat est capté dans l'acide borique. Ensuite, il est titré par une solution 0,1 N de HCl.

### 2.3.3. Détermination de quelques indicateurs du stress (malondialdéhyde et perte d'électrolytes)

Le dosage du malondialdéhyde (MDA) a été déterminé selon la méthode de Heath et Packer (1968). Un échantillon de 0,1 g de matière fraîche (feuilles ou racines) est broyé avec 5 ml d'acide trichloroacétique à 0,1%. Le broyat obtenu est récupéré dans un tube à hémolyse et soumis à une centrifugation à 5000 tr/min. Par la suite, on prend 1 ml du surnageant dans un tube à essai auquel on ajoute 4 ml d'acide trichlo-barbiturique à 0,5%. La solution obtenue est placée dans un bain marie à 110°C pendant 30 minutes. La réaction est arrêtée en plongeant les tubes directement dans un bain de glace pendant 10 minutes puis à la température ambiante pendant 30 minutes. On mesure immédiatement la densité avec un spectrophotomètre en utilisant les longueurs d'onde 532 nm et 600 nm.

Pour la perte d'électrolytes (PE), cinq disques foliaires sont prélevés par un emporte-pièce, puis rincés dans une boîte de Pétri contenant de l'eau distillée. Les disques sont ensuite placés dans un tube contenant 10 ml d'eau distillée. La conductivité de la solution est alors mesurée (C1) une première fois avec un conductimètre préalablement étalonné. L'échantillon est mis ensuite au bain-marie bouillant (110°C) pendant 20 minutes puis refroidi à température ambiante. La conductivité est mesurée une seconde fois (C2). Le pourcentage de fuite d'électrolytes est calculé selon la formule suivante :

$$PE (\%) = (C1/C2) \times 100$$

### 2.3.4. Détermination de la teneur en polyphénols

Les polyphénols totaux dans les échantillons de la poudre sèche de feuilles ont été extraits avec une solution de méthanol à 80%. A 200 µl de l'extrait, on a ajouté 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 800 µl de réactif en solution de carbonates de sodium à 7,5%. Ensuite, le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 30 minutes. Enfin, l'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à 765 nm (Barros et al., 2010). La quantité de composés

phénoliques a été rapportée en équivalents d'acide gallique (mg) en utilisant l'équation linéaire basée sur la courbe de référence.

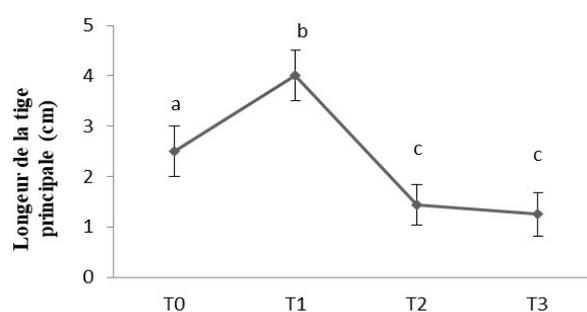
### 2.4. Analyse statistique

Les analyses statistiques de tous les paramètres étudiés ont été faites en utilisant le logiciel SPSS 18 (Statistical Package for the Social Sciences) suivant la procédure ANOVA avec l'utilisation du test de Duncan. Pour chaque paramètre étudié au moins 3 répétitions ont été réalisées.

## 3. RESULTATS ET DISCUSSION

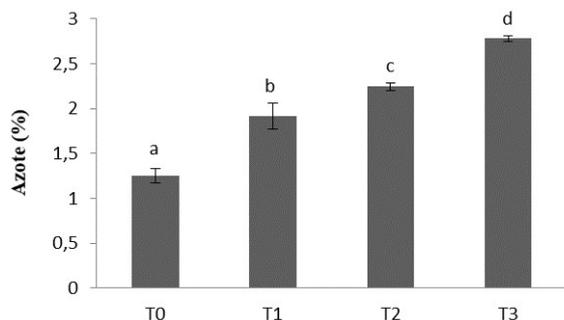
### 3.1. Effet des boues d'épuration sur la croissance

Les résultats obtenus ont montré que l'apport de 5% de boue d'épuration a entraîné une augmentation significative au niveau de la longueur de la tige principale qui est de l'ordre de 60% en comparaison avec les plantes témoins (Fig. 1.). Des résultats similaires ont été observés par de nombreux auteurs et sur diverses plantes. Travaillant sur des plantes du gommier des rivières (*Eucalyptus camaldulensis*), Soudani et al. (2017) révèlent dans leur étude que l'amélioration de la croissance (hauteur, diamètre de la base, diamètre de la mi-hauteur et le nombre des feuilles) a été assurée d'une façon très nette suite à l'incorporation de la boue dans le substrat de culture. Dans les conditions de la présente étude, l'amélioration de la hauteur des jeunes plantes d'olivier traitées par 5% de boue, peut être expliquée par l'augmentation de la teneur en azote foliaire (Fig. 2.).



**Fig. 1.** Variations de la longueur de la tige principale des jeunes plantes d'olivier traitées par des doses croissantes de la boue (T0 (0%) ; T1 (5%) ; T2 (10%) et T3 (15%)).

*a,b,c* : Différentes lettres montrent une différence significative à  $p \leq 0,05$  en utilisant le test de Duncan.



**Fig. 2.** Effet des doses croissantes de la boue d'épuration sur la teneur d'azote totale au niveau des feuilles des jeunes plantes d'olivier. Les doses de boues appliquées sont : T0 (0%) ; T1 (5%) ; T2 (10%) et T3 (15%). *a,b,c,d*: Différentes lettres montrent une différence significative à  $p \leq 0,05$  en utilisant le test de Duncan.

Cependant, la Fig. 1 montre que les traitements T2 et T3 peuvent être soumis à un stress ionique marqué par la richesse en azote et d'autres ions matérialisés par une CE élevée de l'ordre de 7 mS/cm (Tableau 1). Ceci se trouve confirmé par Boutmedj et al. (2015), qui obtiennent une diminution significative de la biomasse et du rendement en grains chez des plantes d'orge (*Hordeum vulgare*) soumises à une dose élevée en boue d'épuration (30 tonnes de boue épandue à l'hectare). Selon ces auteurs, la phytotoxicité des plantes peut être due à la présence des agents pathogènes contenus dans la boue (champignons, bactéries ou virus), ainsi qu'à une possible présence de métaux lourds.

### 3.2. Effet de la boue sur la teneur en azote foliaire

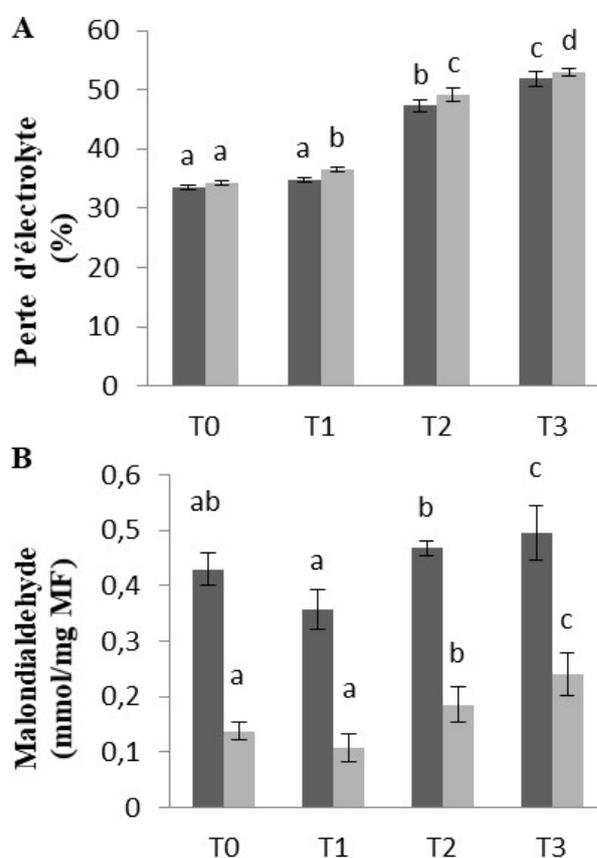
Les résultats obtenus ont montré une augmentation de la teneur en azote au niveau des tissus foliaires des jeunes plantes d'olivier traitées par des doses croissantes de la boue d'épuration (Fig. 2). Cette augmentation est de l'ordre de 52, 79 et 122% au niveau des traitements T1, T2 et T3, respectivement.

Plusieurs études ont montré une corrélation positive entre la teneur en azote et la croissance (Meir et al., 2008 ; Figueiredo et Grassi, 2009). Ces auteurs soulignent que l'azote a un rôle dominant dans la nutrition des plantes. Il est un constituant de la molécule de chlorophylle, des acides aminés, des enzymes et des vitamines. L'émergence des feuilles, la ramification, la floraison, la nouaison et le développement des racines se sont améliorés par l'ajout d'azote dans les sols pauvres (Shehzad et al., 2012). Dans cette étude, la boue d'épuration utilisée est très

riche en azote, son incorporation dans le sol a engendré une augmentation de la teneur d'azote aux niveaux des tissus foliaires (Fig. 2).

### 3.3. Effet de la boue sur la malondialdéhyde et la perte d'électrolytes

Parmi les indicateurs de stress, la malondialdéhyde (MDA) et la perte d'électrolytes (PE) ont été déterminés dans les différents traitements appliqués. Les résultats d'évolution de ces paramètres sont présentés dans les Fig. 3A et 3B. A partir du traitement T2, on note une augmentation significative de ces paramètres. Chez les individus du traitement T3, l'augmentation de la PE et de la teneur en MDA est respectivement de l'ordre de 54 et 74% au niveau des feuilles et elle est respectivement de l'ordre de 55 et 15% au niveau des racines.



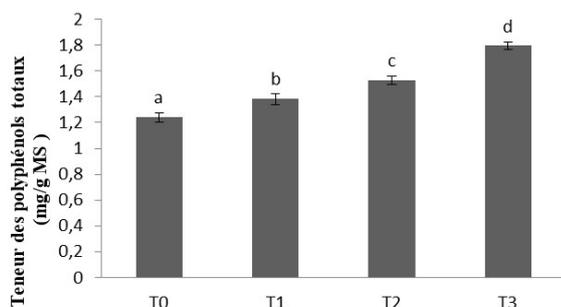
**Fig. 3.** Perte d'électrolytes et teneurs en malondialdéhyde des racines et des feuilles des jeunes plantes d'olivier cultivées sur un sol enrichi par doses croissantes de la boue (T0 (0%) ; T1 (5%) ; T2 (10%) et T3 (15%)). *a,b,c*: Différentes lettres montrent une différence significative à  $p \leq 0,05$  en utilisant le test de Duncan.

Belhaj et al. (2016) montrent qu'une forte concentration en métaux lourds dans la boue d'épuration, peut entraîner un stress métallique

et une augmentation de la teneur en malondialdéhyde chez des plantes de tournesol (*Helianthus annuus*) traitées par 7,5% de la boue d'épuration. Selon Zhang et al. (2013) et Zouari et al. (2016), l'accumulation du Na<sup>+</sup> ou du Cd<sup>2+</sup> dans les tissus foliaires et racinaires peut entraîner une production de peroxyde d'hydrogène qui déclenche des dommages oxydatifs impliquant une augmentation de la teneur en MDA et la PE. Ces résultats suggèrent l'existence des phénomènes de peroxydation lipidique et une perturbation de l'intégrité membranaire au niveau des plantes des traitements T2 et T3.

### 3.4. Effet de la boue sur la teneur en polyphénols

L'application des doses croissantes de boue (5, 10 et 15%) dans le sol a entraîné une augmentation de la teneur en polyphénols des feuilles qui est de l'ordre de 11, 23 et 45% respectivement aux traitements T1, T2 et T3 (Fig. 4.).



**Fig. 4.** Teneur en polyphénols des feuilles des jeunes plantes d'olivier cultivées sur un sol enrichi par doses croissantes de la boue (T0 (0%) ; T1 (5%) ; T2 (10%) et T3 (15%)). a,b,c,d: Différentes lettres montrent une différence significative à  $p \leq 0,05$  en utilisant le test de Duncan.

Les polyphénols ont un rôle dans le maintien de la structure cellulaire et sa protection, en particulier comme des antioxydants. Ils sont également des régulateurs de la machinerie cellulaire (protéines nucléaires et membranaires). L'augmentation de la teneur en polyphénols chez les jeunes plantes d'olivier des traitements T2 et T3 peut être considérée comme un moyen de défense. Selon Ulusu et al. (2017), de nombreux composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les tanins peuvent agir par l'élimination des espèces réactives d'oxygène et ils sont donc capables de réduire la peroxydation des lipides.

## 4. CONCLUSION

L'application de la boue d'épuration à la dose 5% a fortement contribué à l'amélioration du comportement de l'olivier. Cependant, les doses de 10 et 15% semblent causer des perturbations et ceci en comparaison avec la dose 5%. Ces résultats préliminaires sont intéressants pour une valorisation agronomique des boues des stations d'épuration. Ce type d'application pourrait constituer une solution environnementale pour les boues et peuvent présenter un gain économique du fait que celles-ci ne sont pas coûteuses, comparées aux engrais. En perspectives, il est important d'appliquer ce type de valorisation à l'échelle du terrain pour une meilleure validation des résultats.

## REFERENCES

- Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C. (2010). Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. Food and Chemical Toxicology, 48(6), 1466-1472.
- Belhaj, D., Elloumi, N., Jerbi, B., Zouari, M., Ben Abdallah, F., Ayadi, H., Kallel, M. (2016). Effects of sewage sludge fertilizer on heavy metal accumulation and consequent responses of sunflower (*Helianthus annuus*). Environmental Science and Pollution Research 23, 20168-20177.
- Boutmedjet, A., Boukaya, N., Houyou, Z., Ouakid, M.L., Biolders, C. (2015). Étude des effets de l'application de boues d'épuration urbaines sur un sol érodé cultivé dans la région de Laghouat. Revue des Régions Arides 36, 235.
- Figueiredo Lobo, T., Grassi Filho, H. (2009). Sewage sludge levels on the development and nutrition of sunflower plants. Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal 9, 245-255.
- Heath, R.L., Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125, 189-198.
- International Olive Council (IOC) (2012). [www.internationaloliveoil.org/documents/viewfile/6791-tunisie](http://www.internationaloliveoil.org/documents/viewfile/6791-tunisie)
- Karlsons, A., Osvalde, A., Andersone-Ozola, U., Ievinsh, G. (2016). Vermicompost from municipal sewage sludge affects growth and mineral nutrition of winter rye (*Secale cereale*) plants. Journal of Plant Nutrition 39, 765-780.
- Kjeldahl, J. (1883). New Method for the Determination of Nitrogen. Chem News. News 48 (1240), 101-102.

- Meir, P., Kruijt, B., Broadmeadow, M., Barbosa, E., Kull, O., Carswell, F., Nobre, A., Jarvis, P. (2008). Acclimation of photosynthetic capacity to irradiance in tree canopies in relation to leaf nitrogen concentration and leaf mass per unit area. *Plant, Cell and Environment* 25, 343.
- Ministère de l'Agriculture et des Ressources Hydrauliques (2018). [www.agriculture.tn](http://www.agriculture.tn)
- Olsen, S.R. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate (No. 939). US Department of Agriculture.
- Passuello, A., Cadiach, O., Perez, Y., Schuhmacher, M. (2012). A spatial multicriteria decision making tool to define the best agricultural areas for sewage sludge amendment. *Environment International* 38, 1-9.
- Pauwels, J.M., Van Ranst, E., Verloo, M., Mvondo, A. (1992). Manuel de laboratoire de pédologie : Méthodes d'analyses des sols et des plantes. Equipement, gestion des stocks de verrerie et produits chimiques. Publications agricoles 28. AGCD, Bruxelles, Belgium, 180 p.
- Shehzad, M.A., Maqsood, M., Bhatti, M.A., Ahmad, W., Shahid, M.R. (2012). Effects of nitrogen fertilization rate and harvest time on maize (*Zea mays* L.) fodder yield and its quality attributes. *Pharmaceutical and Biological Research Asian Journal* 2-19.
- Silva, M.I., Mackowiak, C., Minogue, P., Reis, A.F., Moline, E.F.D.V. (2017). Potential impacts of using sewage sludge biochar on the growth of plant forest seedlings. *Ciência Rural* 47(1).
- Soudani, L., Maatoug, M., Heilmeyer, H., Kharytonov, M., Wiche, O., Moschner, C., Onyshchenko, E., Bouchenafa N. (2017). Fertilization value of municipal sewage sludge for *Eucalyptus camaldulensis* plants. *Biotechnology reports* 13, 8-12.
- Ulus, Y., Öztürk, L., Elmastaş, M. (2017). Antioxidant capacity and cadmium accumulation in parsley seedlings exposed to cadmium stress. *Russian Journal of Plant Physiology* 64, 883-888.
- Walkley, A., Black, I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science* 37(1), 29-38.
- Zhang, M., Fang, Y., Ji, Y., Jiang, Z., Wang, L. (2013). Effects of salt stress on ion content, antioxidant enzymes and protein profile in different tissues of *Broussoneti apapyrifera*. *South African Journal of Botany* 85, 1-9.
- Zouari, M., BenAhmed, C., Elloumi, N., Bellassoued, K., Delmail, D., Labrousse, P., Ben Abdallah, F., Ben Rouina, B. (2016). Impact of proline application on cadmium accumulation, mineral nutrition and enzymatic antioxidant defense system of *Olea europaea* L. cv. Chemlali exposed to cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 128, 195-205.