

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et végétale



Mémoire de fin d'études

**En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en Ecologie et
Environnement**
Spécialité : Biodiversité et Environnement

Thème :

*Etude comparative de l'effet
stimulateur de deux types de
fertilisants dans la bioremédiation
d'un sol pollué aux hydrocarbures*

Réalisé par :

HESSAS Kaissa

LAGUEL Lisa

Examiné par :

Présidente : Mme LARDJANE N.

M.C.A

U.M.M.T.O.

Promotrice: Mme SADOUDI-ALI AHMED D. Professeur

U.M.M.T.O.

Co-promotrice: Mme CHIBANE G.

M.A.A.

U.M.M.T.O.

Examinatrice: Mme SAHMOUNE F.

M.A.A.

U.M.M.T.O.

2020/2021

Remerciements

En premier, nous remercions le bon Dieu de nous avoir donné la patience et le courage pour mener à terme ce modeste travail ;

Nous tenons à exprimer notre gratitude à notre promotrice professeur SADOUDI-ALI AHMED D. pour avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir proposé ce thème de recherche.

Ainsi qu'à notre co-promotrice Mme CHIBANE G. pour ses conseils, et précieuses orientations.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à Mlle OULTAF L., et Mr SAADOU S. pour leur disponibilité permanente et leurs remarques objectives.

Nous remercions également, très sincèrement les examinatrices Mme LARDJANE N. et Mme SAHMOUNE F. qui ont bien voulu accepter d'évaluer notre travail.

En fin nos remerciements vont à toute personne ayant contribué de prêt ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail ...

A mes chers parents, pour leurs efforts et sacrifices durant mon

cursus

*A mes deux frères **Lounis** et **Ghilas***

A tous mes amis

*A ma chère **Lisa**,*

En souvenir de nos pleurs et éclats de rire, en souvenir de tout ce

qu'on a vécu ensemble, je souhaite de tout mon cœur que notre

amitié

durera éternellement.

Kaissa

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents,

Merci pour votre soutien, patience et encouragement durant mon parcours

*A mes frères **Hani** et **Moumouh***

*A mon adorable sœur **Fériel***

*A ma source de force **Jugurta***

*A mes chères copines d'enfance **Nora**, **Sekoura** et **Katia***

A tous mes amis

*A ma chère **Kaissa** et sa famille,*

C'était un grand plaisir de partager avec toi ce succès dans ses hauts et ses bas, à toi aussi je suis chanceuse de t'avoir dans ma vie, merci infiniment.

Et

A toute la promotion de Biodiversité et Environnement 2020/2021.

LISA

Liste des tableaux

Tableau I : Principaux constituants du sol	3
Tableau II : Abondance des microorganismes dans le sol	4
Tableau III : Classification des hydrocarbures	6
Tableau IV : Résultats des analyses physicochimiques des sols	23
Tableau V : Teneurs des sols en hydrocarbures	26

Liste des figures

Figure 1 : Principe de la dégradation aérobie des hydrocarbures	12
Figure 2 : Localisation du site d'étude.....	13
Figure 3 : Schéma représentatif du dispositif d'échantillonnage	14
Figure 4 : Schéma résumant la méthode utilisée pour l'isolement des microorganismes du sol.....	18
Figure 5 : Protocole d'extraction et dosage des hydrocarbures	20
Figure 6 : Schéma du dispositif de biostimulation	21
Figure 7 : Composition granulométrique du sol	24
Figure 8 : Nombre de bactéries dans les trois sols	25
Figure 9 : Nombre de champignons dans les trois sols	26
Figure 10 : Evolution de la quantité des hydrocarbures dans le sol S1 traité et non traité par les fertilisants inorganiques	27
Figure 11 : Evolution de la quantité des hydrocarbures dans le sol S1 traité et non traité par les fertilisants organiques	28
Figure 12 : Evolution de la quantité des hydrocarbures dans le sol S2 traité et non traité par les fertilisants inorganiques	29
Figure 13 : Evolution de la quantité des hydrocarbures dans le sol S2 traité et non traité par les fertilisants organiques	31
Figure 14 : Taux de biodégradation des hydrocarbures par l'apport des fertilisants organiques et inorganiques après 40 jours de traitement des sols S1 et S2.....	32
Figure 15 : Taux de germination au niveau des sols étudiés	33
Figure 16 : Elongation racinaire des graines de blé dur cultivées sur les différents sols.....	34

Liste des abréviations

BTEX : Benzene, Toluène, Ethylbenzen, Xylène.

CE : Conductivité électrique.

CMR : Capacité maximale de la rétention d'eau.

Finorg : Fertilisants inorganiques

Forg : Fertilisants organiques

HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Hc : Hydrocarbure.

Jrs : Jours.

Koc : Coefficient de partage carbone organique/eau.

Kow : Coefficient de partage octanol/eau.

MO : Matière organique.

N : Azote.

P : Phosphore.

PDA : Potato Dextrose Agar.

Ppm : Parties par million (mg /kg).

P.S.E.M.R.V.C. : Protection, Sauvegarde des Espèces Menacées et des Récoltes, influence des Variables Climatique.

S1 : Sol très pollué.

S1NT : Sol 1 non traité.

S1T : Sol 1 traité.

S2 : Sol moyennement pollué.

S2NT : Sol 2 non traité.

S2T : Sol 2 traité

S3 : Sol sain.

SNT : Sol non traité.

t : Temps.

UFC : Unité de formation de colonie.

U.M.M.T.O. : Université Mouloud Mammeri de tizi-Ouzou.

Vf: Volume final.

Vi: Volume initial.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I: Synthèse bibliographique	
I. Généralités sur le sol	3
I.1 Différents constituants du sol	3
I.2 Principales fonctions du sol	4
I.3 Pollution des sols	5
II. Généralités sur les hydrocarbures	5
II.1 Origine des hydrocarbures	7
II.2 Devenir des hydrocarbures dans le sol	7
II.3 Toxicité des hydrocarbures	8
III. Différentes techniques de remédiation des sols pollués aux hydrocarbures	9
III.1 Classement en fonction du lieu de traitement	9
III.2 Classement en fonction des traitements employés	9
IV. Mécanisme de dégradation des hydrocarbures par les microorganismes	11
Chapitre II: Matériels et méthodes	
I. Région d'étude	13
I.1 Caractérisation géographique et climatique de la région d'étude	13
II. Matériel	14
II.1 Sol	14
II.2 Fertilisants	15
II.3 Blé	15
III. Méthodes analytiques	16
III.1 Caractérisation physico-chimique du sol	16
III.2 Caractérisation microbiologique du sol	17
III.3 Dosage des hydrocarbures totaux dans les sols	19
III.4 Biostimulation	20
III.5 Bio-essais	22
III.6 Analyse statistique des données	22

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Résultats	23
I.1 Caractéristiques physico-chimiques des sols	23
I.2 Microflore des sols étudiés	25
I.3 Taux initial des hydrocarbures dans les sols.....	26
I.4 Evolution de la quantité des hydrocarbures dans les sols.....	27
I.5 Taux de dégradation des hydrocarbures	32
I.6 Bio-essais	33
II. Discussion	35
Conclusion.....	40
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Le problème des sols contaminés est très préoccupant, notamment dans les pays industrialisés (Zmirou et *al.*, 2003). La pollution du sol par les hydrocarbures a attiré davantage l'attention en tant que préoccupation mondiale. Environ 25 000 cas de contamination sont recensés chaque année à travers le monde (Mayer, 2019).

L'Algérie, étant l'un des grands pays producteurs de pétrole et de gaz naturel, n'a pu échapper à la pollution du sol par les hydrocarbures. La production moyenne en pétrole est estimée à environ 878 000 barils/jours en Mars 2021 (Ouramdane, 2021). Cette énergie fossile constitue le pivot essentiel de l'économie nationale, elle représente 96 % des revenus des exportations (CDTM 34, 2012).

La majorité des épisodes de pollution pétrolière sur terre se produisent après des fuites de carburants provenant des pipelines de transport et de réservoirs et conteneurs de stockage (Stout, 2003).

Les hydrocarbures posent un problème environnemental dans la mesure où ils ont des propriétés toxiques. Ils constituent un risque sérieux sur la qualité des sols, la vie végétale et animale ainsi que la santé humaine (Van Der Perk, 2006). La prise de conscience de ce risque conduit à la nécessité d'établir des diagnostics de la pollution et de mettre en œuvre des moyens pour y remédier.

Diverses technologies telles que les techniques physicochimiques sont disponibles pour traiter les sols contaminés par les hydrocarbures. Cependant, ces technologies sont soit coûteuses soit elles ne permettent pas une destruction complète de la contamination (Varjani, 2017).

Parmi les techniques récentes disponibles pour la réhabilitation des sols pollués par les hydrocarbures, la bioremédiation semble faire l'objet d'une plus grande attention. Cela est peut-être dû au fait qu'elle ne laisse pas d'effets négatifs sur le sol; elle utilise les microorganismes naturels pour dégrader les substances dangereuses. Il s'agit de l'optimisation de la dégradation naturelle (Morais et Tauk-Tornisielo, 2009).

La biostimulation est une approche de biorestauration qui vise à améliorer et à accélérer le processus de la dégradation biologique des substances nocives. Elle implique l'ajout aux

sites pollués de nutriments appropriés à la microflore indigène afin d'améliorer son activité métabolique (Ogboghodo et *al.*, 2004).

Des travaux récents effectués au niveau du laboratoire de pathologie des écosystèmes de l'U.M.M.T.O. tel que celui de Oultaf (2014) et Nait abdelkader et Djenad (2015) ont révélé que la biostimulation figure parmi les meilleures techniques de rétablissement des sols pollués par les carburants. Ces études se sont penchées essentiellement sur l'utilisation des fertilisants inorganiques.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude qui consiste à tester l'efficacité de deux types de fertilisants, inorganiques (N, P) et organiques (fumier de volaille) à stimuler les microorganismes du sol pour remédier des sols à différents niveaux de contamination par les hydrocarbures.

Nous avons organisé ce mémoire en trois chapitres dont le premier présente un aperçu bibliographique sur le sol, les hydrocarbures, la pollution du sol par ces derniers et les techniques de remédiation. Le second présente la démarche générale ainsi que le matériel et les méthodes choisies pour atteindre les objectifs fixés. Le troisième est consacré aux résultats obtenus et à leur interprétation et discussion.

Enfin, une conclusion synthétise les principaux résultats de ce travail et permet d'ouvrir sur les perspectives à court et à moyen terme.

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur le sol

Le sol est considéré comme la terre fine qui recouvre la surface de la terre, issue de l'altération in-situ de la roche mère ou de l'accumulation de matières minérales transportées par l'eau ou le vent. La particularité du sol est que cette matière minérale altérée est ajoutée à la matière organique qui peut être à la fois vivante et morte. La matière organique morte comprend des racines, feuilles et autres déchets végétaux, de la faune morte et de la matière organique à divers stades de décomposition, depuis des matières relativement fraîches peu modifiées jusqu'à la matière complexe décomposée appelée humus (Nortcliff et *al.*, 2012).

I.1 Différents constituants du sol

Les sols ont quatre composantes principales : la matière minérale, la matière organique, l'air et l'eau. En règle générale, un échantillon de sol moyen est composé de 45% de minéraux, 25% d'eau, 25% d'air et 5% de matière organique (Alterre, 2012).

Les composantes du sol sont détaillées dans le tableau I.

Tableau I : Principaux constituants du sol (Soltner, 1996, in Gobat et *al.*, 2003).

	Constituants Solides		Constituants liquides	Constituants gazeux
	Minéraux	Organiques		
Origine	-Désagrégation physique et altération biochimique des roches.	-Décomposition des êtres vivants.	-Précipitation. -Nappes phréatiques. -Ruissellement.	-Air hors sol. -Matière en décomposition, - respiration
Critères de classement	-Taille (granulométrie) -Qualité (minéralogie)	-Etat (vivant, mort) -Qualité chimique (originelle, transformée).	-Origine (météorologique, phréatique) -Etat physique (potentiel hydrique) -Qualité chimique	-Origine (air, organismes). -Qualité chimique.
Catégorie	Selon la granulométrie : -squelette (>2mm) -Terre fine (<2mm) Selon la minéralogie.	-Organismes vivants. -Organismes morts -Matière organique héritée. -Matière organique humifiée.	-Eau -Substances dissoutes : glucides, alcools, acides organiques et minéraux, cations et anions.	-Gaz de l'air : N ₂ , O ₂ , CO ₂ . -Gaz issus de la respiration et de la décomposition des organismes : CO ₂ , H ₂ , CH ₄ , NH ₃ .

En termes d'organismes vivants, le sol abrite d'une part ceux appartenant à certains groupes d'animaux, essentiellement des nématodes, des annélides et des arthropodes et, d'autre part, des microorganismes dont les bactéries, les champignons, les actinomycètes et les algues qui sont beaucoup plus nombreux dans les litières, les horizons de surface et la rhizosphère des plantes où les conditions énergétiques et nutritionnelles sont les meilleures (Bidaud, 1998). Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants dans le sol. L'abondance des microorganismes dans le sol est présentée dans le tableau II.

Tableau II : Abondance des microorganismes dans le sol (Bonneau et Souchier, 1994).

Organismes	Nombre (UFC/g de sol sec)
Bactéries	10^8
Actinomycètes	10^5 à 10^6
Champignons	10^5
Algues	10^4 à 10^5
Protozoaires	10^4

I.2 Principales fonctions du sol

Ce concept existe sous de nombreuses formes différentes. Ainsi, Blum (2005) a classé les fonctions du sol en "fonctions écologiques" et "fonctions non écologiques". Les fonctions écologiques consistent en la "production de biomasse y compris dans l'agriculture et la sylviculture ", la "protection de l'homme et de l'environnement ; le sol joue le rôle d'un filtre naturel assurant la qualité des eaux " et le "réservoir de biodiversité tel que les habitats, les espèces et les gènes ". Les fonctions non écologiques couvrent la "base physique des activités humaines", la "source de matières premières agissant comme un réservoir de carbone (stockage et puits)" et le "patrimoine géogénique et culturel".

Le sol est l'une des ressources naturelles qui doivent être protégées avec une grande attention et un grand soin. Bien qu'il ne soit qu'à un mètre de profondeur au-dessous de la

surface de la terre, le sol est la clé du maintien de la vie, affectant la qualité de l'air et de l'eau, la croissance des plantes et des cultures, ainsi que la santé de la planète entière.

Le sol est capable de dégrader rapidement un grand nombre de produits chimiques et de ramener ses composants dans leurs cycles naturels, ce qui minimise les perturbations environnementales dues à la contamination (Adipah, 2019).

I.3 Pollution des sols

La pollution des sols est définie comme l'accumulation dans les sols de composés toxiques persistants, chimiques, de matières radioactives ou d'agents pathogènes, qui ont des effets néfastes sur les organismes vivants. En général, la contamination du sol résulte de l'application de pesticides, la percolation d'eaux de surface contaminées vers les strates souterraines, la lixiviation de déchets provenant des décharges, et le déversement du pétrole et des carburants qui sont parmi les produits chimiques les plus couramment impliqués (Havugimana et *al.*, 2015).

II. Généralités sur les hydrocarbures

Les hydrocarbures (Hc) sont des molécules composées de chaînes d'atomes de carbone et d'hydrogène, leur formule brute est de type C_nH_m . Un atome de carbone dispose de quatre liaisons correspondant à quatre électrons, il peut être relié à quatre atomes d'hydrogène ou à d'autres atomes de carbone par des liaisons simples ou doubles. Les chaînes carbonées peuvent être linéaires, ramifiées ou cycliques (Fatal, 2008).

Les hydrocarbures sont regroupés dans différentes classes parmi lesquelles on distingue les alcanes, les cycloalcanes et les aromatiques (Fatal, 2008). Ces classes sont détaillées dans le tableau III.

Tableau III : Classification des hydrocarbures (Lemière et *al.*, 2001).

Famille des hydrocarbures	Définition	Propriétés physico-chimiques
Les hydrocarbures aliphatiques	<p>Il s'agit des hydrocarbures saturés.</p> <p>Les alcanes et les cycloalcanes sont les principaux composants de cette famille.</p> <p>Les alcanes sont formés par une succession d'atomes de carbone reliés par de simples liaisons, à chaîne droite (n-alcane) ou ramifiée (iso-alcane).</p> <p>Les cycloalcanes sont composés par une chaîne de six carbones fermée qui peut être ramifiée.</p>	<p>La solubilité : de 3 à 30 mg/l pour les composants de 5 à 7 carbones.</p> <p>La densité <1 pour les chaînes de 5 à 26 carbones.</p> <p>La volatilité : les composants de 5 à 12 carbones sont volatiles, alors que les composants de 12 à 26 carbones sont volatiles ou semi-volatile.</p> <p>La viscosité : <1 pour les composants de 5 à 10 carbones. 1 > pour les composants de 5 à 26 carbones.</p> <p>Kow compris entre 3,5 et 5.</p> <p>Koc proche de 3.</p> <p>La stabilité : assez élevée.</p>
Les hydrocarbures aromatiques	<p>Cette famille comprend des composés insaturés, caractérisés par la présence d'au moins une liaison double entre deux atomes de carbone.</p> <p>Les Hc aromatiques mono cycliques sont principalement les COV et les BTEX, composé par un cycle benzénique à six atomes de carbone.</p> <p>Les HAP sont constitués par une agglomération au moins de deux noyaux benzéniques formés exclusivement par des atomes de carbone et d'hydrogène.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Les Hc aromatique mono cyclique <p>La solubilité : faible pour les Hc aromatiques non substitués et les Hc substitués par des radicaux-aliphatiques.</p> <p>La densité <1 mais pour les substances les plus substitués est >1.</p> <p>La volatilité : volatile.</p> <p>Koc compris entre 2 et 3.</p> <p>La stabilité : forte stabilité.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les HAP <p>Solubilité : faible à très faible.</p> <p>La densité > 1.</p> <p>La volatilité : semi volatiles.</p> <p>Kow compris entre 3 et 7.</p>

II.1 Origine des hydrocarbures

Les hydrocarbures sont naturellement présents dans l'environnement, ils proviennent de la dégradation d'une grande quantité de matières organiques végétales ou animales, par des microorganismes. Cette dégradation a lieu dans des conditions particulières et s'étale sur plusieurs années (Soltani, 2004).

L'origine des Hc peut être anthropique. Ils proviennent le plus souvent d'une pollution pétrolière (production, raffinage, transport et utilisation des Hc) ou de la pétrochimie, d'usines à gaz, de l'industrie chimique de basse, de la fabrication de caoutchouc ou des industries mécaniques (Jeannot, 2000).

Dans les stations-services, les déversements de carburants peuvent se produire principalement lors de fuites de réservoirs de stockage souterrains, ce qui peut entraîner une contamination du sol et des eaux souterraines (Lima et *al.*, 2020).

II.2 Devenir des hydrocarbures dans le sol

Les hydrocarbures sont soumis à différents processus d'altération physique, chimique et biologique lorsqu'ils sont déversés dans le sol. Ces processus vont déterminer leur devenir et leur comportement dans le milieu (Fingas, 2013).

II.2.1 Volatilisation

La volatilisation désigne le passage des hydrocarbures du sol vers l'atmosphère (Koller, 2004). Ce processus touche les fractions de faible poids moléculaire ou les hydrocarbures légers, il est conditionné par différents paramètres tels que la température (la volatilisation est importante à température élevée), l'humidité (plus elle est grande plus la volatilisation est faible) et la pression de vapeur (les hydrocarbures ayant une pression de vapeur inférieure à celle de l'air sont les plus volatiles) (Saada et *al.*, 2005).

II.2.2 Sorption

La sorption est un processus au cours duquel les solutés s'accumulent aux surfaces ou aux interfaces (cas de l'adsorption) du sol ou se partagent entre les interfaces (cas de la dissolution) (Saada et *al.*, 2005).

Les hydrocarbures pétroliers sont soumis à une sorption par les composants organiques et minéraux du sol. À la teneur élevée en matière organique, la sorption est améliorée et l'accessibilité des hydrocarbures pétroliers pour la biodégradation est considérablement réduite. L'intensité d'accumulation des hydrocarbures dans les sols est également liée à la texture du sol. De faibles niveaux d'accumulation de ces composés sont révélés dans les

sols sableux. En même temps, les hydrocarbures pétroliers peuvent pénétrer dans les nanopores du sol où leur disponibilité pour les micro-organismes diminue (Gennadiev et *al.*, 2015).

II.2.3 Solubilisation

Quelques hydrocarbures arrivent à se dissoudre partiellement dans l'eau malgré leur faible solubilité. Les hydrocarbures à masse moléculaire faible et à polarité élevée sont les plus solubles (Soltani, 2004).

La salinité, la température et la sorption peuvent avoir un effet marqué sur la solubilité des hydrocarbures (Truskewycz et *al.*, 2019).

II.2.4 Dégradation abiotique

Les processus physiques et chimiques dont la photolyse qui se fait sous l'action de la lumière, l'hydrolyse sous l'action de l'eau et les réactions d'oxydoréduction abiotiques sont à l'origine de la dégradation abiotique des hydrocarbures (Park *et al.*, 2001 in Guermouche, 2014).

II.2.5 Dégradation biotique

C'est la dégradation des composés carbonés effectuée par des microorganismes, elle se réalise en présence ou en absence d'oxygène. Ce processus dépend de l'activité bactérienne et des conditions environnementales ou encore des caractéristiques des hydrocarbures. En effet, plus la chaîne d'un hydrocarbure sera longue, plus sa biodégradabilité sera difficile et plus l'hydrocarbure comportera de cycles, plus sa biodégradabilité sera moins importante (Tarayre, 2012 in Selmoun et Benkhebeche, 2016).

II.3 Toxicité des hydrocarbures

Les hydrocarbures peuvent s'accumuler à différents niveaux dans les chaînes alimentaires et perturber les processus physiologiques ou biologiques de plusieurs espèces, provoquant ainsi des cancers, des mutations, des troubles de la reproduction et des hémorragies dans la population exposée. Parmi les hydrocarbures pétroliers, l'écotoxicité des composés appartenant au groupe des BTEX est la plus préoccupante car ils sont liposolubles, ils agissent comme déprimeurs du système nerveux central et ils sont toxiques même à de faibles concentrations (Da Silva et *al.*, 2020).

III. Différentes techniques de remédiation des sols pollués aux hydrocarbures

Le choix de la méthode la plus appropriée et la plus pratique d'assainissement in-situ ou ex-situ et la plus réalisable dépend, au préalable, des conditions environnementales, du type de polluant et de la variabilité de son comportement, de la nature de la contamination, de la composition du sol, des coûts d'élimination et du temps disponible pour le traitement (Colombano et *al.*, 2010).

III.1 Classement en fonction du lieu de traitement

Les traitements peuvent être appliqués selon trois modes (Colombano et *al.*, 2010).

III.1.1 Traitement ex-situ

Ce traitement consiste à excaver et transporter le sol pollué vers des centres de traitement adaptés où il sera traité.

III.1.2 Traitement sur site

Il implique aussi l'excavation des terres mais celles-ci sont traitées sur le site.

III.1.3 Traitement in-situ

Il correspond à un traitement du sol en place sans l'excaver ; extraire le polluant seul, le dégrader ou le fixer dans le sol.

III.2 Classement en fonction des traitements employés

III.2.1 Traitements physiques

C'est le transfert et la concentration des polluants dans le sol sans les modifier ou les détruire, à l'aide de fluides (eau ou gaze) pour immobiliser la pollution ou la transporter vers des points d'extraction (Louati, 2013).

III.2.2 Traitements thermiques

Les traitements thermiques consistent en l'utilisation de la chaleur pour extraire le polluant, le détruire (incinération), l'isoler (désorption thermique, thermolyse, etc.) ou le rendre inerte (vitrification) (Louati, 2013).

III.2.3 Traitements chimiques

C'est l'extraction ou la transformation des polluants par l'intermédiaire d'une réaction chimique entre ceux-ci et un acide, une base ou une électrolyse (Girard et *al.*, 2011).

III.2.4 Traitement biologique

Il consiste en la décontamination des sites naturels en faisant appel à des microorganismes, des végétaux divers ou d'enzymes qu'ils produisent (Quentin, 2021).

Ils existent deux principales catégories:

III.2.4.1 Phytoremédiation

Elle exploite les propriétés des végétaux pour extraire, dégrader ou immobiliser les polluants dans les trois compartiments de l'environnement (sol, air, eau) et permet le traitement d'une grande diversité de polluants (métaux, pétrole brut, hydrocarbures aromatiques polycycliques,...) (Origon et *al.*, 2012).

La phytoremédiation, lorsqu'elle est appliquée aux sols pollués, repose sur plusieurs mécanismes, qui sont la phytodégradation, la phytoaccumulation, la phytovolatilisation, la phytostabilisation et la rhizoremédiation (Mazziotti, 2017).

III.2.4.2 Bioremédiation

Elle exploite la capacité enzymatique des microorganismes (bactéries, algues, champignons) pour dégrader les polluants organiques dans le sol. Elle peut se faire in-situ ou ex-situ. Cette technique se déroule généralement en conditions d'aérobie (Fokou-Mbogne, 2017).

III.2.4.2.1 Atténuation naturelle

L'atténuation naturelle est le processus de biorestauration le plus simple par lequel la population microbienne indigène (bactéries et champignons) élimine les polluants. Ce processus d'assainissement se produit naturellement dans la plupart des sites contaminés, il consiste uniquement à vérifier la présence et la capacité des microorganismes pour dégrader les polluants (Koshlaf et Ball, 2017).

III.2.4.2.2 Biostimulation

Cette procédure a pour effet de stimuler la croissance et l'activité des microorganismes indigènes présents dans le site contaminé par l'ajout de nutriments comme le phosphore, l'azote ainsi que des donneurs d'électrons afin d'accélérer la biodégradation naturelle (Goswami et *al.*, 2018).

III.2.4.2.3 Bioaugmentation

Dans la bioaugmentation, la microflore autochtone du site pollué est enrichie par l'ajout d'espèces microbiennes exogènes ou génétiquement modifiées et préalablement

sélectionnées pour favoriser la dégradation du polluant. Cette méthode est très efficace lorsque les microorganismes indigènes sont incapables de dégrader le polluant (Da Silva et *al.*, 2020).

IV. Mécanisme de dégradation des hydrocarbures par les microorganismes

Plusieurs microorganismes peuvent dégrader partiellement ou complètement les hydrocarbures. Ce sont principalement des bactéries qui participent à cette dégradation. Certains champignons ont été également révélés capables de dégrader ces composés (Maamar, 2015).

Pendant cette dégradation, le carbone est oxydé et est utilisé comme source d'énergie en faisant intervenir l'azote et le phosphore qui participent à la synthèse protéique et en utilisant l'oxygène comme oxydant (Lecompte, 1995).

En conditions d'anaérobiose, l'oxygène est remplacé par les nitrates, sulfates ou méthane (Lecompte, 1995).

Le processus de dégradation des Hc en présence d'oxygène est illustré dans la figure 1.

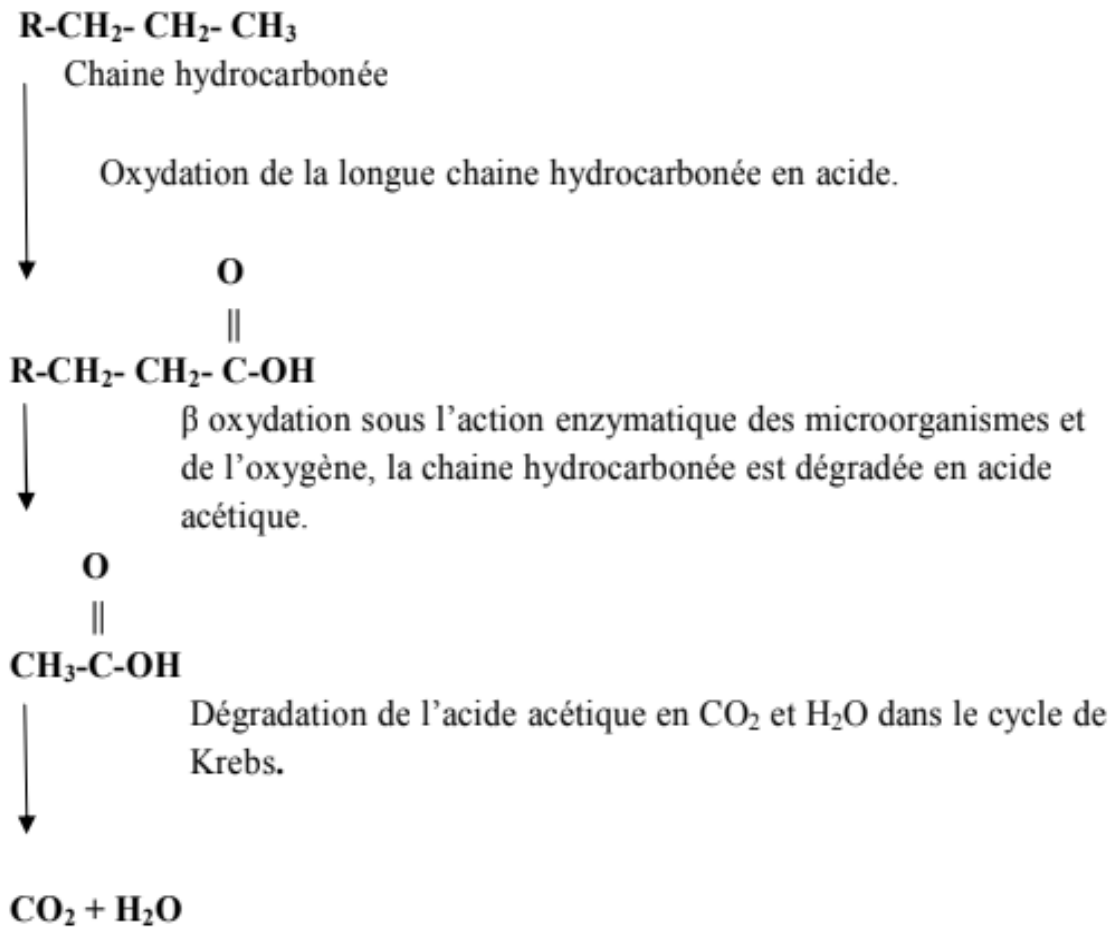


Figure 1 : Principe de la dégradation aérobie des hydrocarbures (Lecompte, 1995).

Matériels et méthodes

Dans le but de mettre en application la technique de biostimulation d'un sol pollué aux hydrocarbures, une étude a été menée au niveau du laboratoire P.S.E.M.R.V.C. de l'U.M.M.T.O. Pour cela, un ensemble de matériels est réuni et diverses méthodes ont été adoptées.

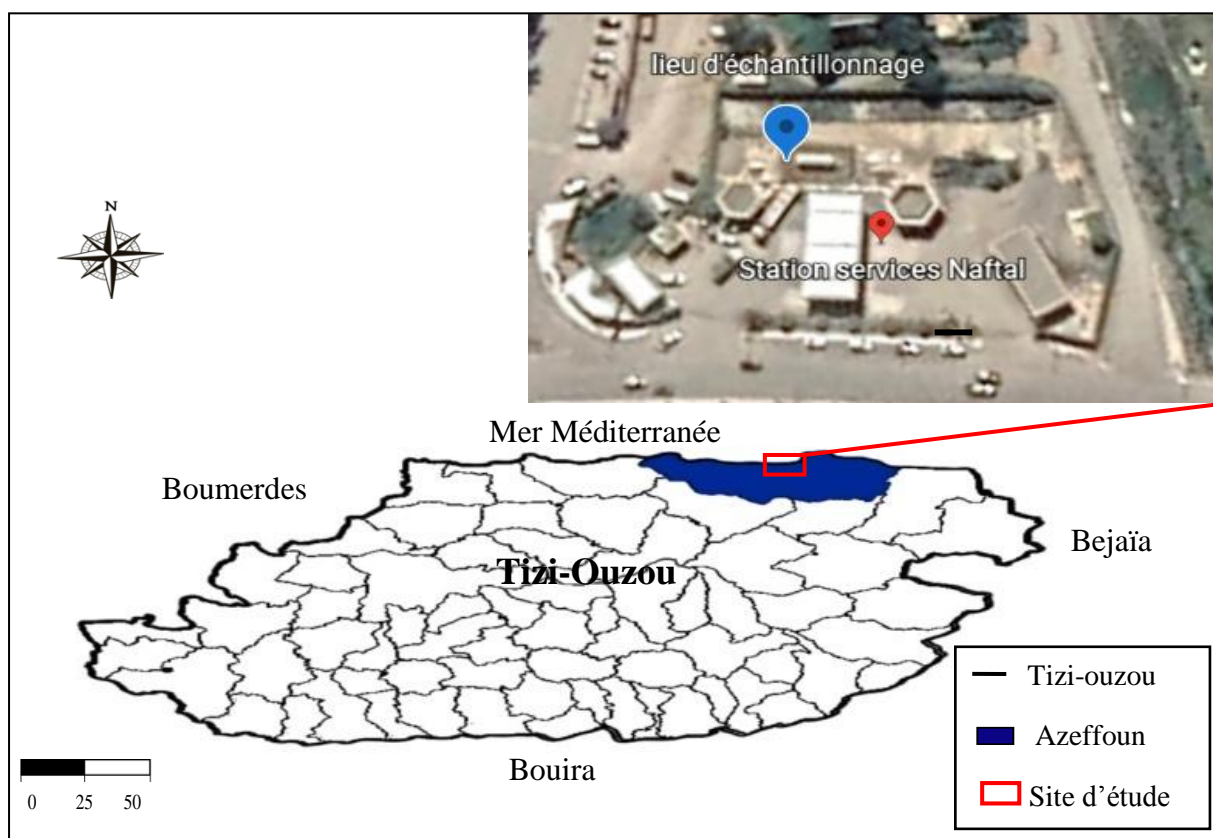
I. Région d'étude

Le site d'étude est la station-service NAFTAL, située à Azeffoun.

I.1 Caractérisation géographique et climatique de la région d'étude

Azeffoun est une commune côtière située à l'extrême nord-est de la wilaya de Tizi-Ouzou, à 65 km du chef-lieu de la wilaya, et à 170 km à l'Est d'Alger. Elle s'étale sur une superficie de 126,65 km².

Vu sa position sur la bande littorale, la ville d'Azeffoun bénéficie d'un climat méditerranéen qui se caractérise par une alternance de deux saisons, un hiver frais et humide, un été chaud et sec (Benaouda et Ouared, 2017). La localisation de la région d'étude est illustrée par la figure 2.



II. Matériel

II.1 Sol

Sur une surface d'un mètre carré (1m^2) au niveau de la station-service, un prélèvement de sol a été effectué dans l'horizon 0 à 20 cm. Suivant un graduant de pollution, trois échantillons du sol ont été prélevés : (S1) au niveau de la strate 1, à 1m de la source de pollution, (S2) au niveau de la strate 2, à 3 m de la source de pollution et (S3) au niveau de la strate 3, à 5m de la source de pollution. Les échantillons ont été étiquetés, transportés au laboratoire et conservés au frais.

Le dispositif d'échantillonnage est représenté dans la figure 3.

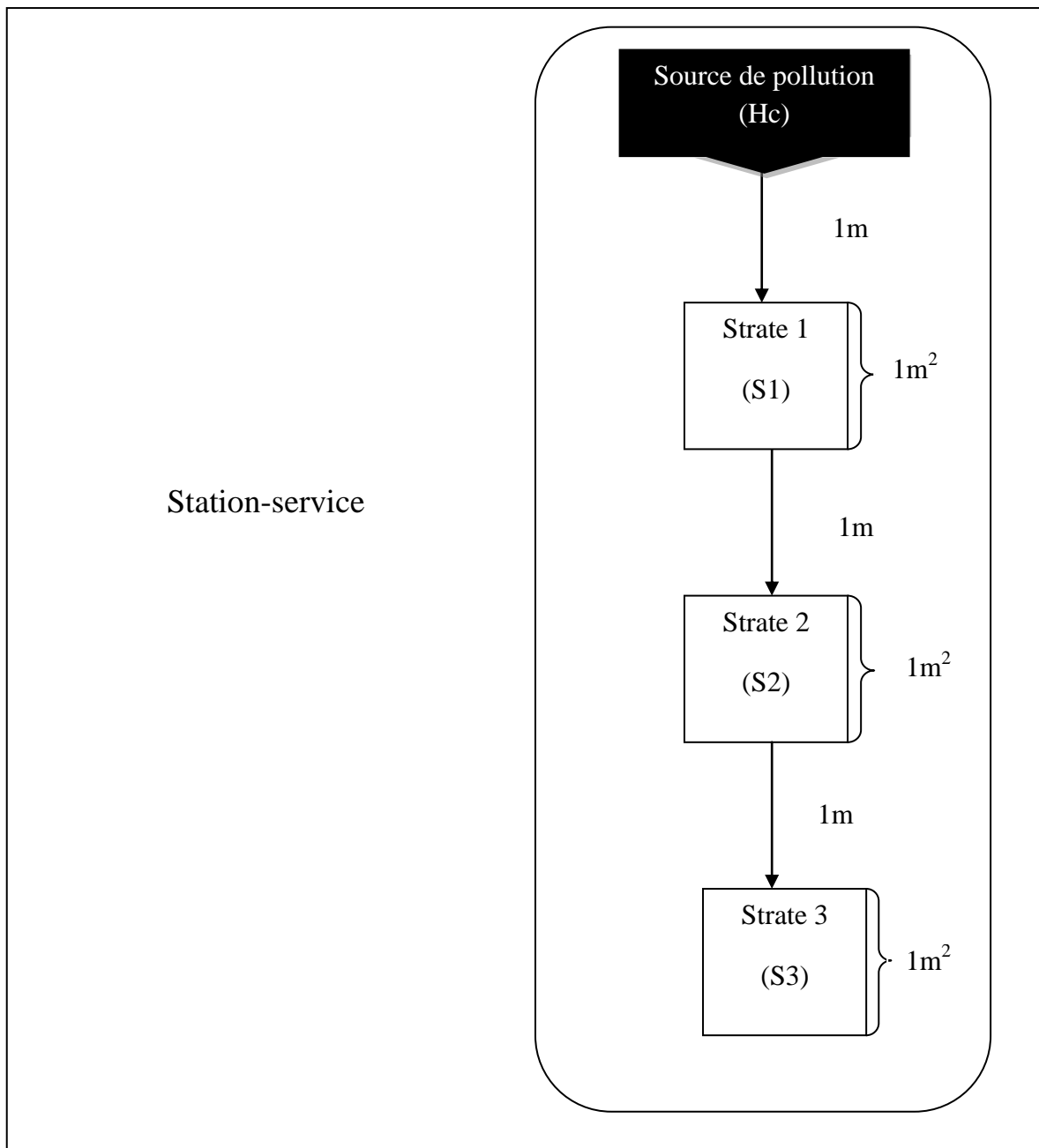


Figure 3 : Schéma représentatif du dispositif d'échantillonnage (Originale, 2021).

II.2 Fertilisants

Pour la biostimulation, nous avons utilisé deux types de substrats comme fertilisants.

II.2.1 Substrat organique

Le fumier de volaille a été utilisé comme source d'éléments nutritifs et source de microorganismes.

II.2.2 Substrat inorganique

Le phosphate Di-potassique KH_2PO_4 et le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ont été utilisés comme source de phosphore et d'azote pour stimuler l'activité des microorganismes du sol dégradant les hydrocarbures.

II.2.2.1 Phosphate Di-potassique

C'est une poudre granulaire, incolore ou blanche, de formule chimique KH_2PO_4 , et de poids moléculaire de 174,18 g / mol.

II.2.2.2 Sulfate d'ammonium

Il est sous forme de cristaux anhydres, transparents, de saveur piquante, et une formule chimique de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Le poids moléculaire est de 132,14 g /mol.

II.3 Blé

Afin d'évaluer l'efficacité de la biostimulation, le blé dur a été utilisé dans les tests de phyto-toxicité.

Le blé dur est une plante annuelle, monocotylédone appartenant à la famille des Poaceae.

La classification botanique du blé dur, selon Brouillet et *al.* (2006) est la suivante :

Règne : Plantae
Sous-règne : Tracheobionta
Super division : Spermatophyta
Division : Magnoliophyta
Classe : Liliopsida
Sous-classe : Commelinidae
Ordre : Cyperales
Famille : Poaceae
Tribu : Trituceae
Genre : *Triticum*
Espèce : *Triticum durum* Desf

Le choix de cette espèce dans les bio-essais a été fait par rapport à sa sensibilité aux hydrocarbures.

III. Méthodes analytiques

III.1 Caractérisation physico-chimique du sol

III.1.1 Capacité maximale de la rétention d'eau (CMR)

Dans un entonnoir couvert de papier filtre, nous introduisons 100 g de sol. Un volume initial ($V_i=100$ ml) d'eau distillée a été ajouté. Après cinq heures de l'égouttage, le volume d'eau final (V_f) a été recueilli.

La CMR a été calculée en utilisant la formule suivante : $CMR=V_i-V_f$ (Duchaufour, 1995).

III.1.2 Humidité hygroscopique

L'humidité hygroscopique a été déterminée par la méthode gravimétrique qui consiste à sécher, à l'aide d'un four à 105°C , 5g de sol (séché à l'air libre et tamisé à 2 mm) et déterminer ensuite, par pesée finale, le poids d'eau contenue dans l'échantillon.

III.1.3 Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH du sol a été mesuré par la méthode potentiométrique à l'aide d'un pH-mètre dans une suspension de sol/eau distillée égale à 1 /2,5.

III.1.4 Conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique traduit la salinité du sol, elle est mesurée par un conductimètre sur une solution sol/eau (1/5).

III.1.5 Azote total (N)

L'azote total est déterminé par la méthode de Kjeldahl qui s'effectue en deux étapes.

La première étape est une digestion en milieu acide qui transforme tous les composés organiques azotés en azote ammoniacal.

Dans la seconde étape, les ions ammonium sont dosés par un système automatisé.

Les ions ammonium réagissent avec du salicylate, du nitroferrocyanure et de l'hypochlorite de sodium pour former, en milieu alcalin, un complexe salicylate ammoniacal, dont l'absorbance à 660 nm est proportionnelle à la concentration de l'azote ammoniacal.

III.1.6 Carbone organique total (C)

La teneur en carbone organique dans les sols a été déterminée par la méthode de Anne. Cette méthode permet le dosage direct du carbone organique par colorimétrie après oxydation à chaud de la matière organique par du bichromate de potassium en excès, en milieu sulfurique.

III.1.7 Matière organique (MO)

La teneur en matière organique totale du sol est obtenue en dosant la teneur en carbone, sachant que $MO\% / C\% = 1,72$.

III.1.8 Texture et structure du sol

Un échantillon de 150 g de sol tamisé à 2 mm de diamètre a été introduit dans une éprouvette. De l'eau distillée est ajoutée jusqu'à submersion totale, puis nous remuons énergétiquement pendant 3min et nous laissons reposer pendant 30 min. Ensuite, la solution a été remuée de nouveau et est laissée reposer pendant 24h afin que les particules d'argile les plus fines puissent décanter.

La hauteur totale du sol ainsi que la hauteur d'argile, de limon et de sable a été mesurée avec une règle plate, puis les proportions de chaque fraction ont été calculées.

III.2 Caractérisation microbiologique du sol

III.2.1 Préparation des milieux de culture

Pour les études microbiologiques des sols, deux milieux de culture ont été préparés. L'un a été préparé à base du nutriment (Broth) pour cultiver un grand nombre de micro-organismes ne présentant pas d'exigences particulières, l'autre à base d'extrait de pomme de terre et de glucose, c'est le milieu de culture PDA, favorable à la croissance des champignons. L'agar-agar a été utilisé comme gélifiant (Annexe I).

III.2.2 Préparation de la solution mère

Dans un tube à essai stérilisé contenant 10 ml d'eau physiologique stérile, nous introduisons 1g de sol puis nous mélangeons à l'aide d'un vortex pendant 5 min.

III.2.3 Préparation des suspensions-dilutions

Pour préparer les dilutions, 6 tubes stériles contenant chacun 9 ml d'eau physiologique stérile ont été mis en place. 1 ml de la solution mère est transvasé dans le 1^{er} tube, c'est la dilution 10^{-1} . Après une agitation de 5 min au vortex, 1ml de la dilution 10^{-1} est transféré

dans le 2^{ème} tube pour obtenir la dilution 10^{-2} . La procédure de dilution a été répétée en série jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-6} . La méthode est illustrée par la figure 4.

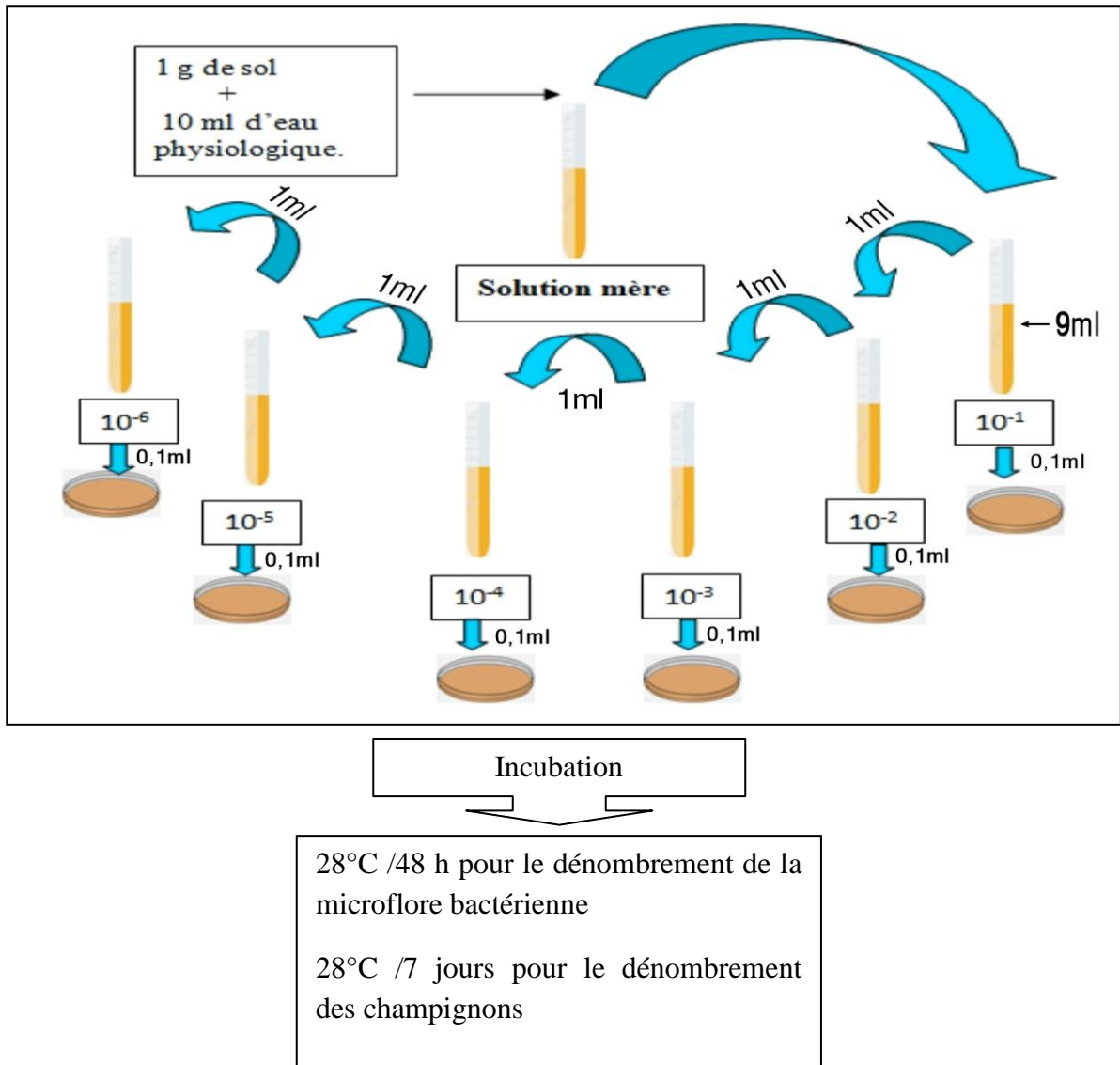


Figure 4 : Schéma résumant la méthode utilisée pour l'isolement des microorganismes du sol (Originale, 2021).

III.2.4 Dénombrement de la microflore bactérienne

Afin d'isoler et de dénombrer la microflore bactérienne existant dans les différents sols, 0,1 ml de chaque dilution est ensemencé sur des boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive.

La lecture des résultats par le dénombrement des colonies apparues se fait après incubation pendant 24 heures à 28°C avec un compteur de colonies.

III.2.5 Dénombrement des champignons

La méthode des dilutions, mise au point pour l'isolement des bactéries, est également utilisable pour les champignons.

Un inoculum de 0,1ml est étalé sur toute la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. La lecture des résultats se fait à l'œil nu à partir du septième jour d'incubation à 28°C.

Le nombre de germes par gramme de sol est déterminé en calculant la moyenne arithmétique des résultats obtenus à partir de deux dilutions successives, d'après la formule de la méthode AFNOR Version NF ISO 7218/A1 (Técher, 2011) :

$$N = \frac{\Sigma c}{v} (n_1 + 0,1 . n_2) d$$

N : nombre des microorganismes en UFC/ml.

Σc: somme totale de colonies comptées.

v: volume prélevé (0,1 ml).

n₁ : nombre de boîtes dénombrables comptés dans la 1^{ère} dilution (la plus faible).

n₂ : nombre de boîtes dénombrables comptés dans la 2^{ème} dilution (la plus forte).

d: facteur de dilution correspondant à la 1^{ère} dilution retenue.

Les résultats obtenus sont exprimés par le nombre d'unités formant une colonie (UFC) par ml.

III.3 Dosage des hydrocarbures totaux dans les sols

Après mélange et agitation pendant 2h, de 20 g de sol, séché et tamisé au préalable, avec 100 ml d'hexane comme solvant d'extraction, le surnageant est transvasé dans un système de filtre puis recueilli dans une boîte de Pétri en verre et laissé s'évaporer à l'air libre.

La quantité des hydrocarbures a été estimée par la différence de poids entre la boîte de Pétri après l'évaporation de l'hexane et la boîte de Pétri vide.

En vue de suivre la biodégradation des hydrocarbures en fonction du temps et de la qualité des fertilisants, la procédure a été répétée tous les dix jours pendant quarante jours.

Les résultats sont représentés en ppm.

Le protocole d'extraction et dosage des hydrocarbures est illustré par la figure 5.

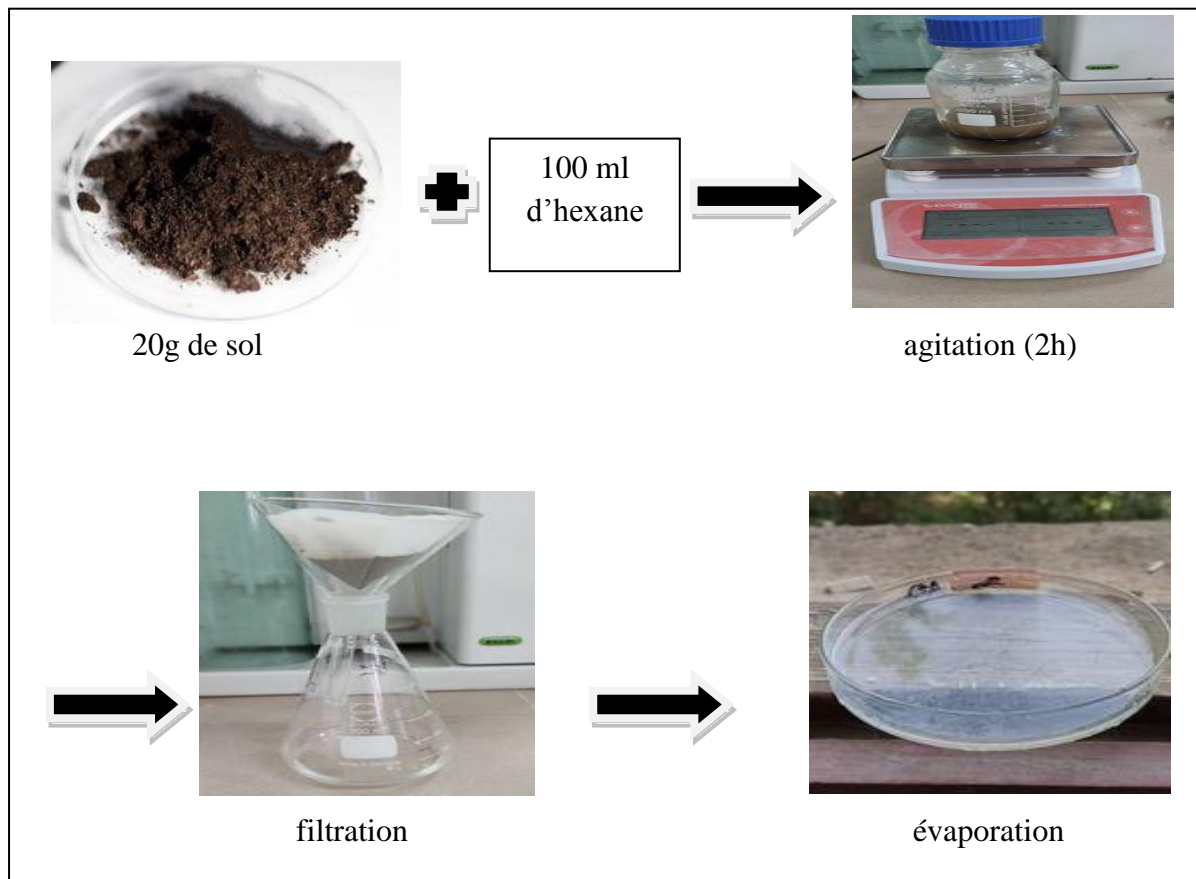


Figure 5 : Protocole d'extraction et dosage des hydrocarbures (Originale, 2021).

III.4 Biostimulation

Les unités expérimentales étaient des pots de 25 /17 cm de diamètre dans lesquels ont été déposés 300 g de sol. Neuf prélèvements de 300g ont été faits dans chacun des sols 1 et 2 dont trois sont destinés au traitement par les fertilisants inorganiques, trois au traitement par les fertilisants organiques et les trois derniers prélèvements sont laissés comme témoins.

L'aération et l'humidification des échantillons se fait de manière régulière pendant toute la période d'essai.

Les doses des substrats à rajouter ont été calculées selon la concentration des hydrocarbures dans les sols. Pour une pollution à 5% en hydrocarbures, il est recommandé d'ajouter 50g de fumier de volaille (Tanee et Kinako, 2008).

Les quantités de Phosphate Di-potassique KH_2PO_4 et de Sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sont calculées en respectant le rapport C/ N/ P = 100/ 10/ 1 (Paul et Clark, 1989).

Le dispositif expérimental de la biostimulation est illustré dans la figure 6.

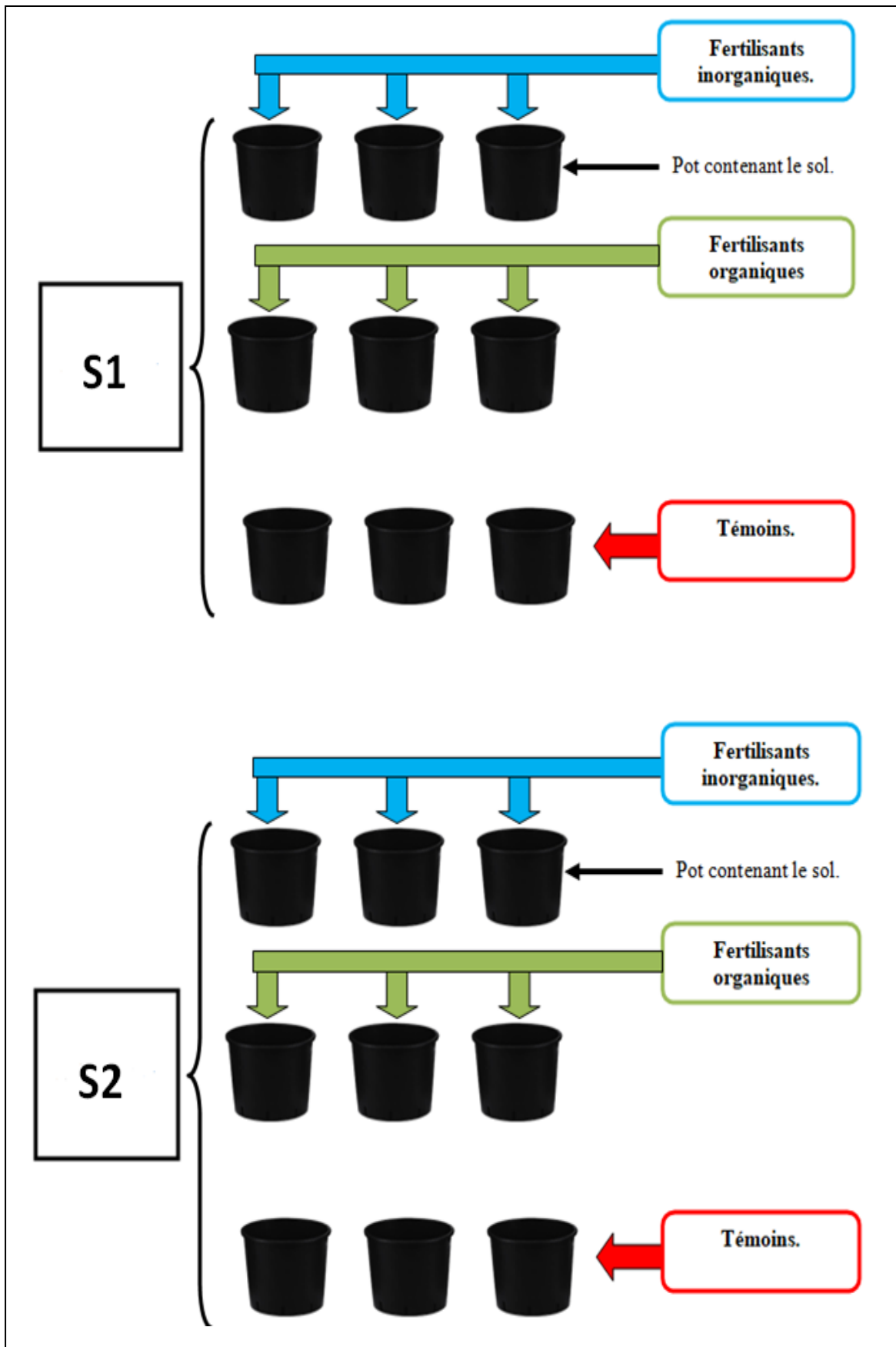


Figure 6 : Schéma du dispositif de biostimulation (Originale, 2021).

III.5 Bio-essais

Pour tester la fiabilité de la méthode de dépollution appliquée, des tests de phytotoxicité ont été réalisés.

III.5.1 Test de germination

Ce test consiste à semer 10 graines de blé dur dans des boîtes de Pétri contenant 100 g de sol tamisé à 2 mm, prélevé de chaque pot traité et non traité ainsi que du sol S3. A noter que les graines de blé sont stérilisées avec l'eau de javel et rincées avec l'eau distillée.

Une humidification journalière a été effectuée jusqu'au quinzième jour de semence.

Les graines germées sont dénombrées à $t_{7\text{jrs}}$ et $t_{15\text{jrs}}$ et le taux de germination est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux de germination} = (\text{nombre de graines germées} / \text{nombre total de graines}) \times 100$$

III.5.2 Elongation racinaire

L'élongation racinaire est calculée après avoir mesuré la longueur des racines principales des graines germées après 7 jours (1^{ère} mesure) et après 15 jours (2^{ème} mesure).

L'élongation racinaire est calculée comme suit :

$$\text{Elongation racinaire} = 2^{\text{ème}} \text{ mesure} - 1^{\text{ère}} \text{ mesure}$$

III.6 Analyse statistique des données

Les résultats de l'expérience ont été soumis à l'analyse de la variance (Anova), lorsque les données suivent une loi normale et au test de Kruskal-Wallis dans le cas contraire. La normalité des données a été vérifiée par le test de Shapiro-Wilk, au seuil de signification 5%.

Le test de Newman-Keuls permet la détermination des groupes homogènes lorsque les tests précédents révèlent une différence significative entre les moyennes.

Ces analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel ©R (4.0.3).

Résultats et discussion

I. Résultats

I.1 Caractéristiques physico-chimiques des sols

Les résultats des analyses physico-chimiques des sols étudiés sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV : Résultats des analyses physico-chimiques des sols.

Paramètres	Echantillon de sols		
	S1	S2	S3
CMR (ml)	25	28	31
Humidité (%)	2,931	2,817	3,092
pH	7,81	8,02	8,12
CE (ds/cm)	1,13	0,98	0,81
Azote N (%)	0,14	0,18	0,23
Carbone total C(%)	4	2,35	0,58
MO (%)	7	5	1
C/N	28	13	2

Il ressort de la lecture des résultats du tableau IV que la capacité maximale de la rétention d'eau (CMR) du sol décroît avec la pollution du milieu; la CMR du sol S3 est plus élevée que celles de S1 et S2.

Les sols S1, S2 et S3 présentent des taux d'humidité proches respectifs de 2,931%, 2,817% et 3,092%.

Concernant le potentiel d'hydrogène des sols, selon Baize (1989), le sol S1 présente un pH légèrement alcalin avec une valeur de 7,81. Les sols S2 et S3 ont un pH moyennement alcalin avec des valeurs respectives de 8,02 et 8,12. Nous remarquons une légère diminution du pH en se rapprochant de la source de pollution.

La conductivité électrique des sols est de l'ordre de 1,13 ds/cm pour S1, 0,98 ds/cm pour S2 et 0,81 ds/cm pour S3. Les trois sols sont considérés comme non salins selon la norme de Baize (2000).

La teneur des sols en azote total décroît en s'approchant de la source de pollution. Le sol S3 est le plus chargé en azote avec un pourcentage de 0,23 contrairement à S1 qui contient 0,14 %. Par contre, le rapport C/N et les teneurs des sols en matière organique et en carbone total tendent à augmenter en s'approchant de la source de pollution. En effet, S1 présente les valeurs les plus importantes qui sont de 4% pour le carbone total, 7% pour la matière organique et 28 pour le rapport C/N. Les teneurs de S2 et S3 viennent respectivement en deuxième et en troisième position.

Nous déduisons à partir de tous ces résultats que :

- S1 est un sol légèrement alcalin, non salin et très riche en matière organique, il nécessite plus d'azote pour une bonne décomposition de la matière organique.
- S2 est un sol moyennement alcalin, non salin et riche en matière organique.
- S3 est un sol moyennement alcalin, non salin et pauvre en matière organique.

Les résultats obtenus pour l'analyse granulométrique sont présentés dans la figure 7.

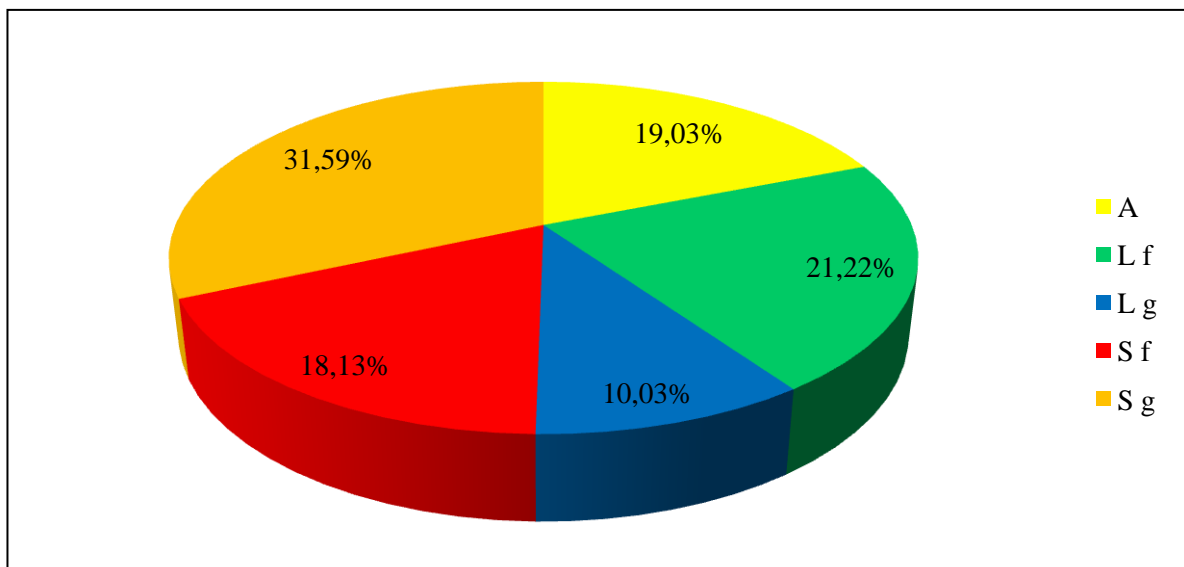


Figure 7: Composition granulométrique du sol.

Les sols étudiés sont constitués de 19,03% d'argile (A), 31,25% de limon dont 21,22% de limon fin (L f) et 10,03% de limon grossier (L g), et de 49,72% de sable soit 31,59 % de sable grossier (S g) et 18,13% de sable fin (S f).

- La texture de ces sols est donc limoneuse selon le triangle de texture du sol (Bonneau et Souchier, 1979).

I.2 Microflore des sols étudiés

I.2.1 Bactéries

La figure suivante rapporte le nombre de bactéries dans les trois sols étudiés.

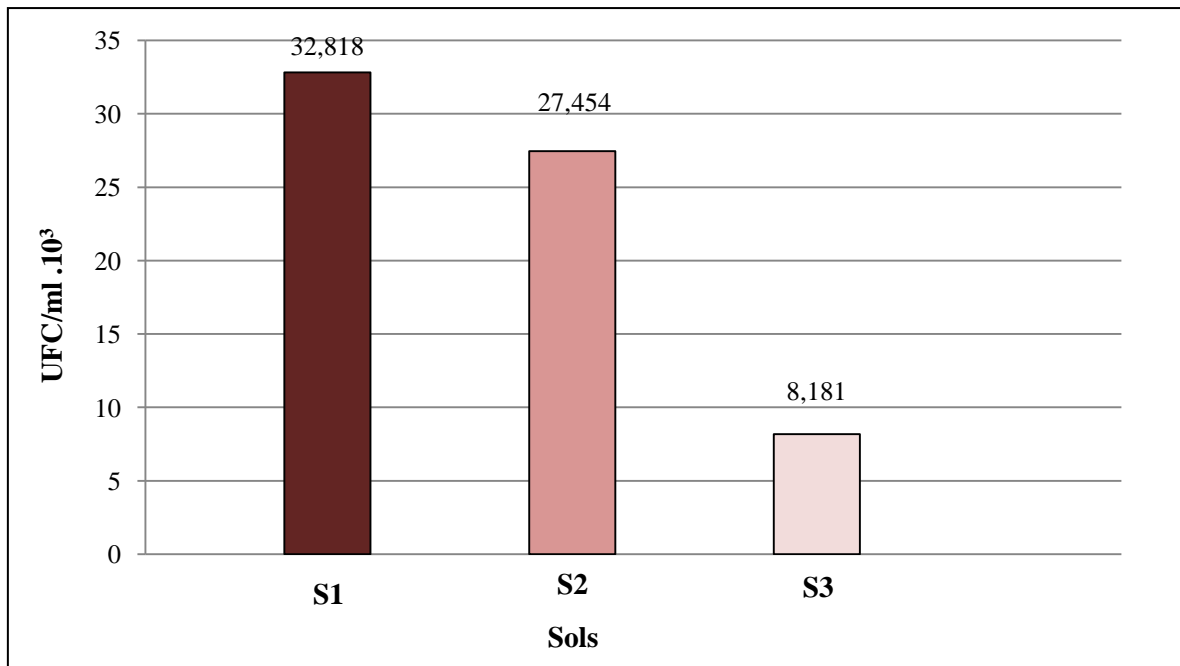


Figure 8: Nombre de bactéries dans les trois sols.

Selon la figure 8, nous constatons pour les sols S1 et S2, une charge bactérienne importante de l'ordre de $32,818.10^3$ et $27,454.10^3$ UFC/ml respectivement. Le sol S3 s'avère plus pauvre en bactéries par rapport aux autres sols avec une charge de $8,181.10^3$ UFC/ml.

I.2.2 Champignons

La figure suivante montre le nombre de champignons dans les trois sols étudiés.

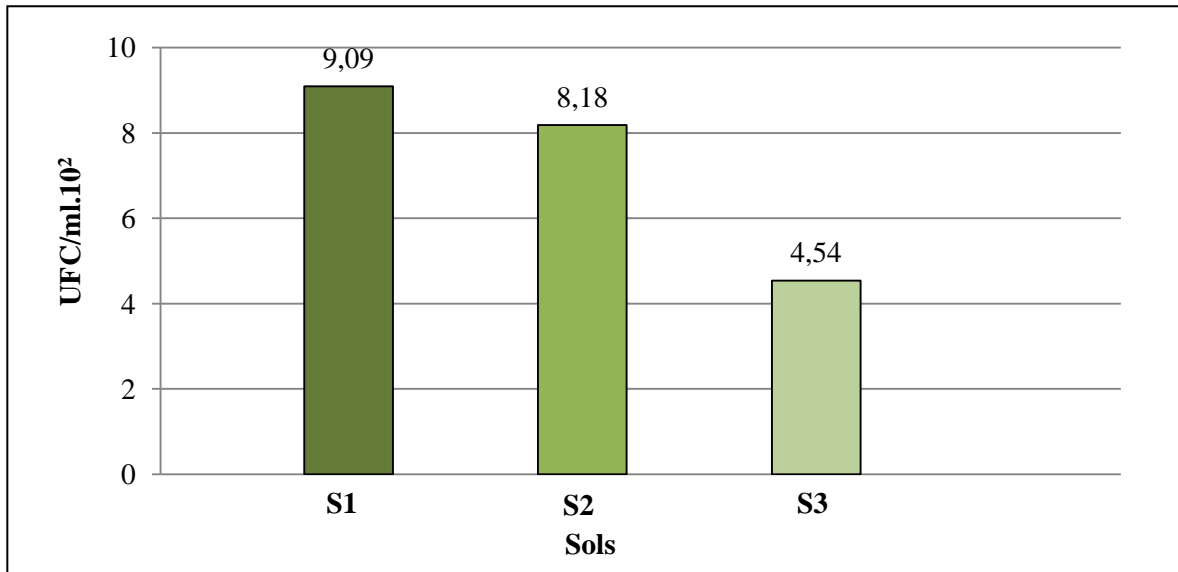


Figure 9: Nombre de champignons dans les trois sols.

Il ressort de la figure 9 que la population fongique est plus abondante dans les sols les plus proches de la source de pollution par les hydrocarbures. En effet, elle est de l'ordre de $9,09 \cdot 10^2$ et $8,18 \cdot 10^2$ UFC/ml respectivement pour S1 et S2. Pour le sol S3, éloigné de la source de pollution, nous avons dénombré $4,54 \cdot 10^2$ UFC/ml.

I.3 Taux initial des hydrocarbures dans les sols

Le tableau V rapporte les concentrations initiales des hydrocarbures dans les trois sols.

Tableau V : Teneurs des sols en hydrocarbures.

Echantillon de sols	S1	S2	S3
Taux d'hydrocarbures (ppm)	$12 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	0

La teneur maximale en hydrocarbures est enregistrée au niveau du sol S1 qui est le plus proche de la source de pollution avec $12 \cdot 10^3$ ppm. Le sol S2 contient $4 \cdot 10^3$ ppm, et aucune pollution n'a été détectée au niveau de S3. En comparant les teneurs de ces sols en hydrocarbures, nous considérons S1 comme sol très pollué, S2 moyennement pollué et S3 comme sol non pollué (sain).

Le test d'Anova a révélé une différence très hautement significative de la quantité des hydrocarbures pour le facteur sol ($P=1.492 e^{-06}$).

Le test de Newman-Keuls a fait ressortir 3 groupes homogènes (Annexe IV). Les quantités des hydrocarbures du sol S1 sont représentées dans le groupe « a », celles du sol S2 dans le groupe « b » et celles du sol S3 dans le groupe « c ».

I.4 Evolution de la quantité des hydrocarbures dans les sols

I.4.1 Au niveau du sol S1 (sol très pollué)

➤ Traitement par les fertilisants inorganiques

Les variations de la concentration des hydrocarbures dans le sol S1 traité et non traité par les fertilisants inorganiques sont présentées dans la figure 10.

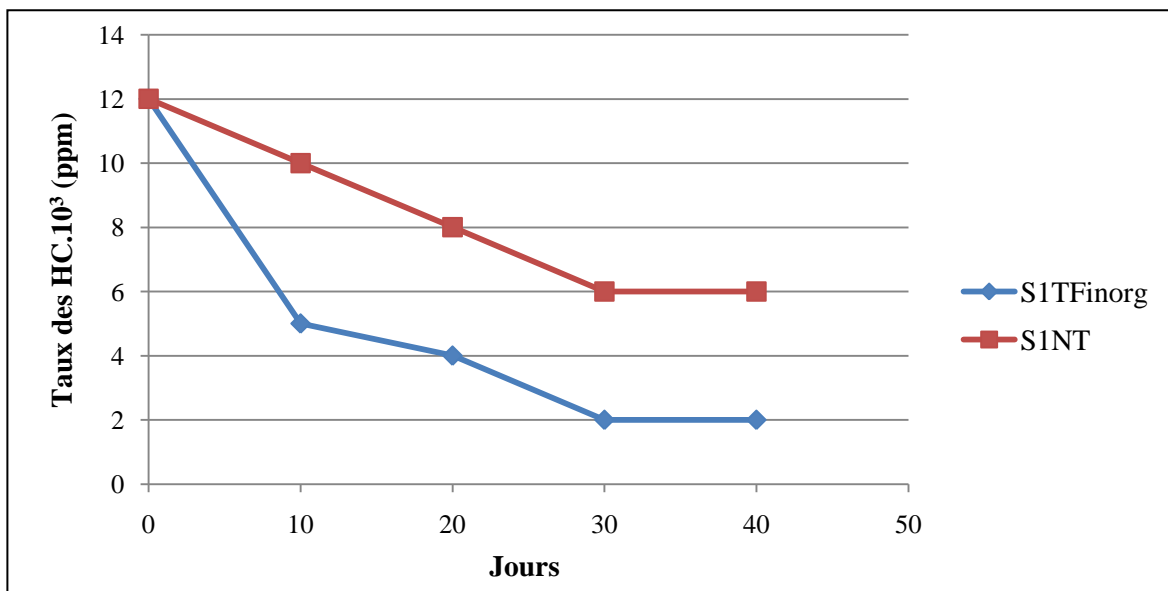


Figure 10: Evolution de la quantité d'hydrocarbures dans le sol S1 traité et non traité par les fertilisants inorganiques.

Durant les premiers 10 jours de traitement, plus de la moitié des hydrocarbures a été éliminée dans le sol traité par les fertilisants inorganiques (S1TFinorg). La quantité des hydrocarbures continue à diminuer progressivement pour atteindre $2 \cdot 10^3$ ppm après 30 jours puis se stabiliser à cette valeur jusqu'à la fin de la durée du traitement. Pour le sol non traité (S1NT), la moitié du taux initial des hydrocarbures ($6 \cdot 10^3$ ppm) n'a été atteinte qu'après 30 jours. La quantité des hydrocarbures se stabilise ensuite à $6 \cdot 10^3$ ppm jusqu'à la fin du traitement.

L'analyse de la variance (Anova) a révélé que l'effet lié au temps de traitement sur la quantité des hydrocarbures dans le sol non traité est hautement significatif ($P=0.00664$).

Le test de Newman-Keuls a permis de classer les quantités d'hydrocarbures en 4 groupes homogènes (Annexe V). Le groupe « a » renferme la teneur initiale en hydrocarbures, « ab » la teneur à T1 et « bc » la teneur à T2. Dans le groupe « c », nous avons les quantités obtenues à T3 et T4.

Le test de Kruskal-Wallis pour la quantité des hydrocarbures révèle une différence significative pour le facteur temps dans le sol S1 traité par N et P ($P=0.02903$).

Le test de Newman-Keuls a fait ressortir 4 groupes homogènes (Annexe V). Dans le groupe « a », nous avons la valeur obtenue à T0, dans les groupes « b » et « bc », les valeurs obtenues à T1 et T2 respectivement. Le groupe « c » renferme les quantités acquises à T3 et T4.

La période du traitement a un effet significatif sur l'élimination des hydrocarbures dans les sols. La biodégradation des hydrocarbures a été améliorée par l'ajout de N et P.

➤ Traitement par les fertilisants organiques

Les variations de la concentration des hydrocarbures dans le sol S1 traité et non traité par les fertilisants organiques sont présentées dans la figure 11.

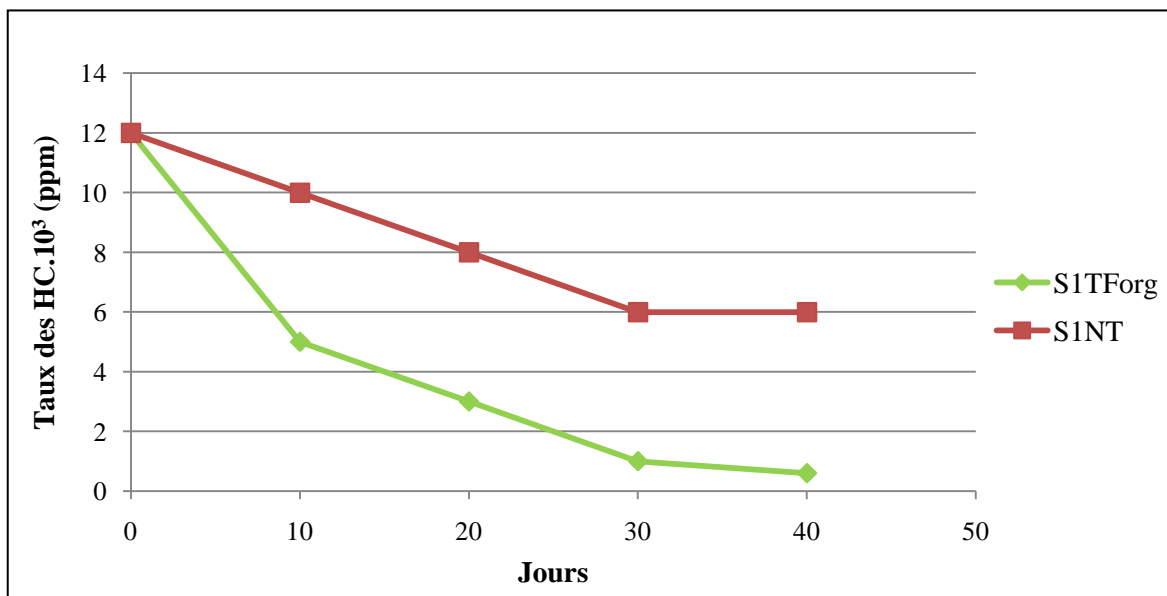


Figure 11: Evolution de la quantité d'hydrocarbures dans le sol S1 traité et non traité par les fertilisants organiques.

La quantité des hydrocarbures diminue brusquement au niveau du sol traité par les fertilisants organiques (S1TForg) jusqu'à atteindre un taux de 5.10^3 ppm de sol après 10 jours de traitement. Le taux d'hydrocarbures continue à diminuer pour atteindre une valeur de 1.10^3 ppm au bout de 30 jours puis une valeur presque nulle au bout de 40 jours.

Au niveau du sol non traité (S1NT), une baisse de 2.10^3 de la teneur en hydrocarbures a été observée après chaque dix jours. La valeur des hydrocarbures se maintient à 6.10^3 ppm à partir du 30^{ème} jour.

L'analyse de la variance (Kruskal-Wallis) confirme que le temps a un effet significatif sur l'évolution de la quantité des hydrocarbures ($P=0.02506$).

Les concentrations en carburants ont été classées en 2 groupes homogènes par le test de Newman-Keuls (Annexe V). Le groupe « a » représente la quantité des hydrocarbures à T0, et le groupe « b » les quantités obtenues à T1, T2, T3 et T4.

La période du traitement a donc un effet significatif sur l'élimination des hydrocarbures dans les sols. L'ajout du fumier a amélioré le taux de biodégradation des hydrocarbures.

I.4.2 Au niveau du sol S2 (sol moyennement pollué)

➤ Traitement par les fertilisants inorganiques

Les variations de la concentration des hydrocarbures dans le sol S2 traité et non traité par les fertilisants inorganiques sont présentées dans la figure 12.

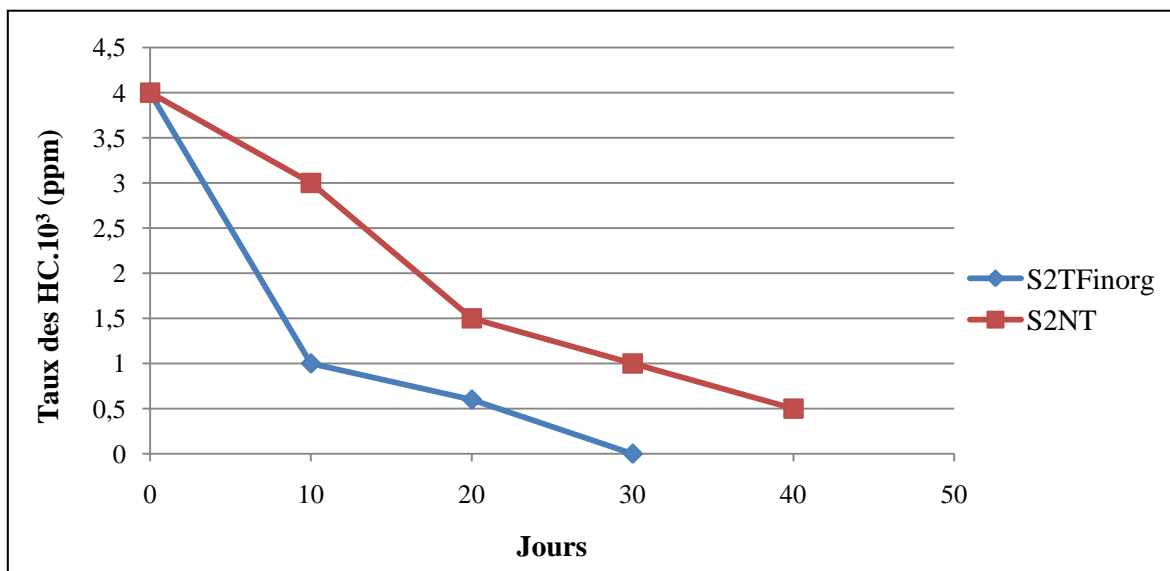


Figure 12 : Evolution de la quantité d'hydrocarbures dans le sol S2 traité et non traité par les fertilisants inorganiques.

La teneur en hydrocarbure dans le sol traité par les fertilisants inorganiques (S2TFinorg) décroît jusqu'à ce qu'elle atteigne 1.10^3 ppm au bout de 10 jours. Cette diminution se poursuit jusqu'à l'élimination totale des carburants au 30^{ème} jour.

Nous remarquons une élimination progressive des hydrocarbures dans le sol non traité (S2NT). Une valeur de $0,5.10^3$ ppm est observée au 40^{ème} jour de traitement.

L'analyse de la variance (Anova) de la quantité d'hydrocarbures a révélé une différence significative pour le facteur temps dans le sol S2 non traité ($P=0.01426$).

Le test de Newman-Keuls a fait ressortir 3 groupes homogènes (Annexe V). La teneur en hydrocarbures à T0 est classée dans le groupe « a », celles obtenues à T1 et T2 dans le groupe « ab » et les valeurs de T3 et T4 sont regroupées dans le groupe « b ».

Dans le sol S2 traité par N et P, une différence significative de la quantité des hydrocarbures, pour le facteur temps, a également été révélée par le test de Kruskal-Wallis ($P=0.03376$).

Le classement des données en groupes par le test de Newman-Keuls a révélé 2 groupes homogènes (Annexe V). Dans le groupe « a », nous retrouvons la concentration obtenue à T0 et dans le groupe « b » les concentrations obtenues à T1, T2, T3, et T4.

La période du traitement a également un effet significatif sur l'élimination des hydrocarbures dans les sols. L'ajout du N et P a amélioré le taux de biodégradation des hydrocarbures.

➤ **Traitement par les fertilisants organiques**

Les variations de la concentration d'hydrocarbures dans le sol S2 traité et non traité par les fertilisants organiques sont présentées dans la figure 13.

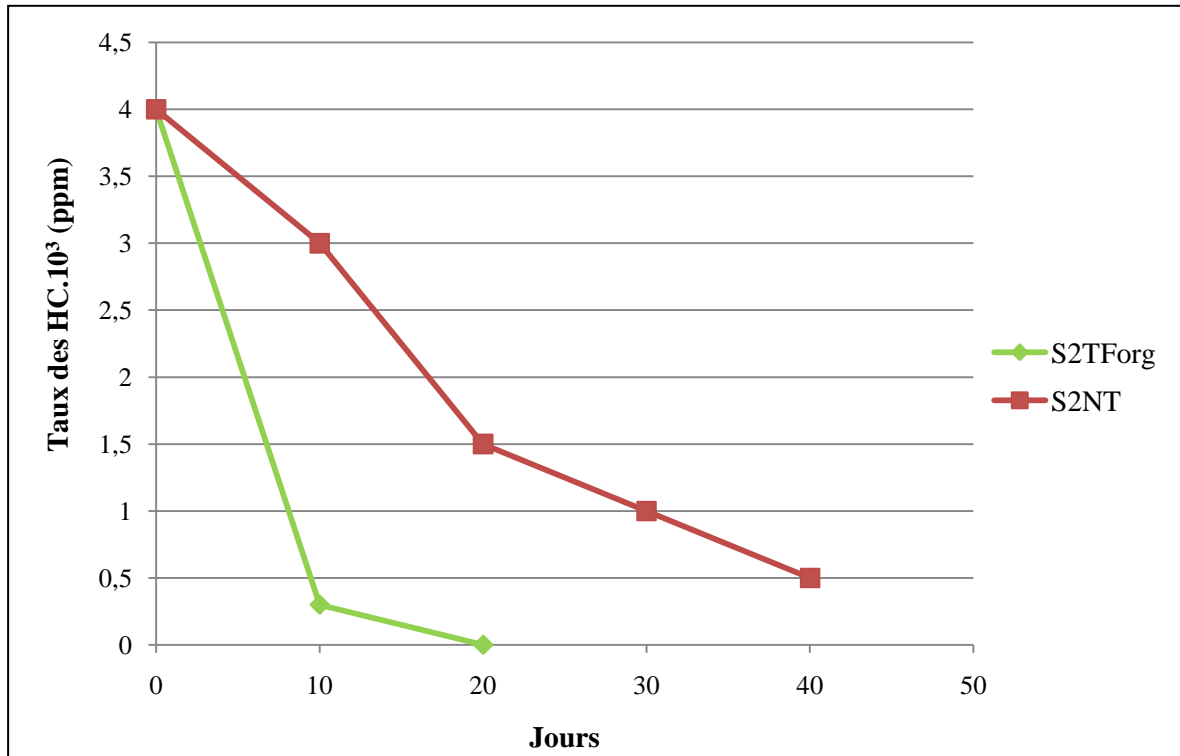


Figure 13: Evolution de la quantité d'hydrocarbures dans le sol S2 traité et non traité par les fertilisants organiques.

Dans le sol traité par les fertilisants organiques (S2TForg), les hydrocarbures ont connu une élimination totale au bout de 20 jours. En revanche dans le sol non traité (S2NT), le taux des hydrocarbures est passé de 4.10^3 à 3.10^3 ppm en 10 jours, de 3.10^3 à $1,5.10^3$ ppm en 20 jours et de $1,5.10^3$ à 1.10^3 ppm en 30 jours pour atteindre enfin une valeur minimale de $0,5.10^3$ ppm en 40 jours.

Les résultats du test de kruskal-Wallis montrent que les teneurs en hydrocarbures diffèrent de façon significative pour le facteur temps ($P=0.01816$).

Le test de Newman-Keuls a donné 2 groupes homogènes (Annexe V), dans le groupe « a » se trouve la valeur initiale T0 et dans le groupe « b » se trouvent les autres valeurs.

La période du traitement a, donc, exercé un effet sur l'élimination des hydrocarbures dans les sols. L'ajout du fumier a amélioré le taux de biodégradation des hydrocarbures.

Nous rappelons que dans le sol S3, la quantité des hydrocarbures est nulle, par conséquent, il n'a fait l'objet d'aucun traitement.

I.5 Taux de dégradation des hydrocarbures

Le taux de biodégradation des hydrocarbures par l'apport des fertilisants organiques et inorganiques dans les sols S1 et S2 après 40 jours de traitement est présenté dans la figure 14.

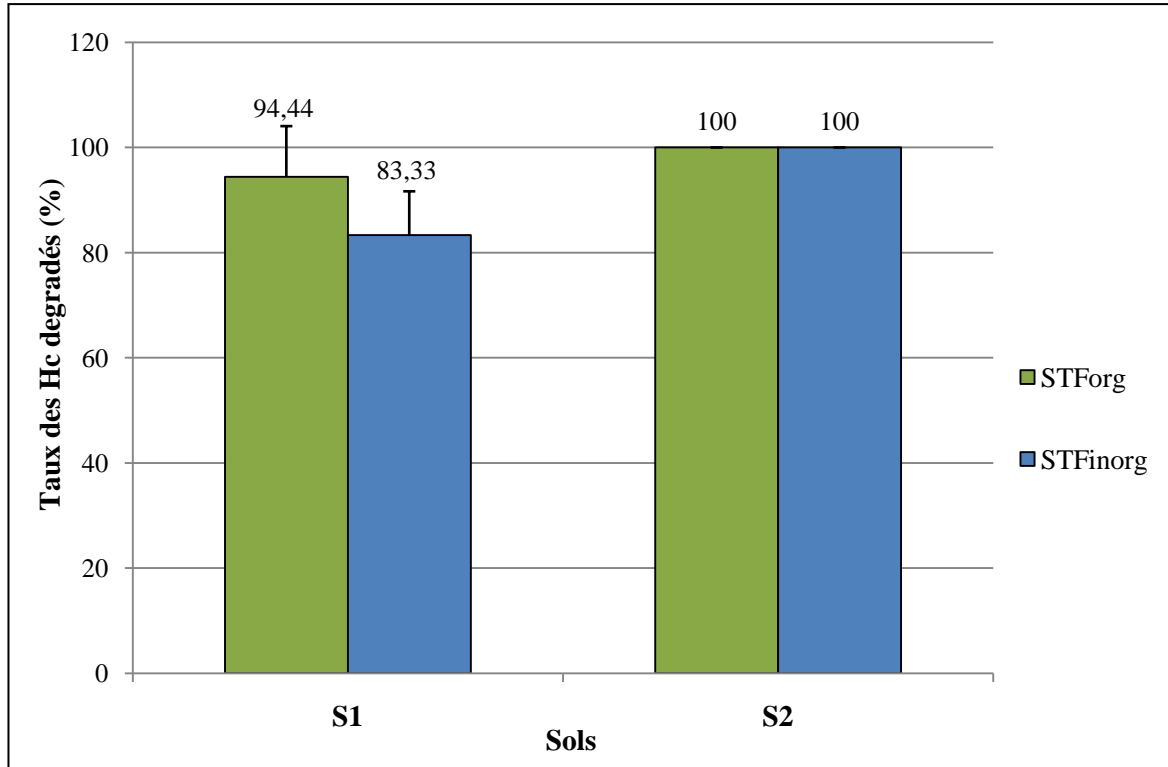


Figure 14 : Taux de biodégradation des hydrocarbures par l'apport des fertilisants organiques et inorganiques après 40 jours de traitement des sols S1 et S2.

D'après la figure 14, tous les sols traités ont connu une baisse en hydrocarbures après 40 jours de traitement. Le taux de dégradation le plus élevé a été enregistré au niveau des sols traités par les fertilisants organiques (STForg) avec un taux de 100 % pour le sol S2 et 94,44 % pour le sol S1. Les sols traités par les fertilisants inorganiques (STFinorg) viennent en deuxième position avec un taux de dégradation de 83,33% pour le sol S1 et 100% pour le sol S2.

Concernant les tests statistiques pour le taux de dégradation des hydrocarbures au niveau des sols S1 et S2, le test de Kruskal-Wallis n'a révélé aucune différence significative pour le facteur type de traitement ($P= 0.2155$) (Annexe VI).

I.6 Bio-essais

I.6.1 Germination

Les taux de germination des graines du blé dur au niveau des sols sont représentés dans la figure suivante.

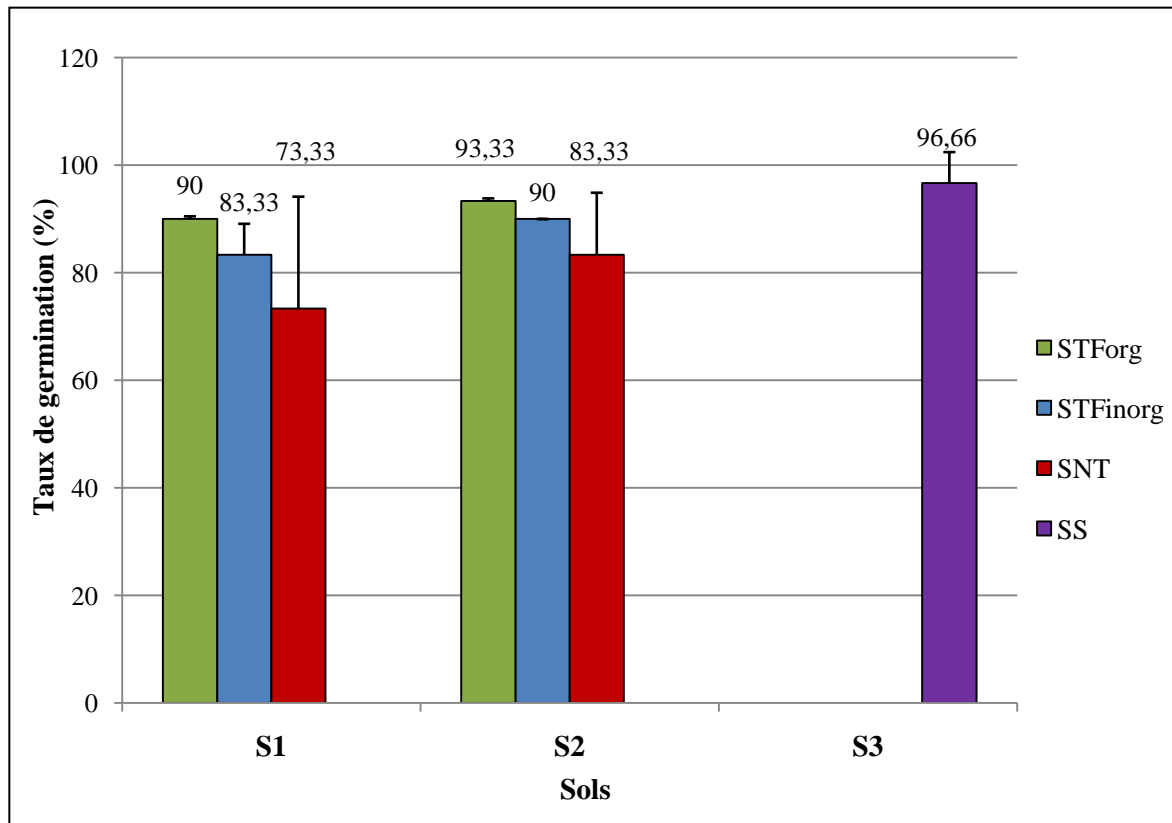


Figure 15: Taux de germination au niveau des sols étudiés.

Les résultats exprimés dans la figure 15 montrent les changements des taux de germination des graines de blé semées dans les différents sols.

Nous constatons que le taux de germination diffère d'un sol à un autre. La germination a atteint un taux maximal de 96,66% dans le sol sain S3 et varie dans le sol S2 de 93,33% pour le sol traité par les fertilisants organiques (S2TForg) à 90% pour le sol traité par les fertilisants inorganiques (S2TFinorg) et à 83,33% pour le sol non traité (SNT). Au niveau du sol S1, le taux de germination est de l'ordre de 90% pour le sol traité par les fertilisants organiques (S1TForg). Il est de 83,33% pour le sol traité par les fertilisants inorganiques (S1TFinorg) et 73,33% pour le sol non traité.

Le test de Kruskal-Wallis pour le taux de germination a révélé une différence significative pour le facteur sol ($P=0.03207$) ainsi que pour le facteur traitement

($P=0.03164$) et aucune différence significative n'a été révélée pour l'interaction sol-traitement ($P=0.08478$).

Pour le facteur sol, le test de Newman-Keuls a classé les taux de germination obtenus dans les trois sols (S1, S2, S3) dans le groupe homogène « a » (Annexe IX). Pour le facteur traitement, il a fait ressortir trois groupes homogènes. Le taux de germination du sol sain (S3) a été classé dans le groupe « a », ceux des sols traités par les fertilisants organiques et traités par les fertilisants inorganiques dans le groupe « ab » et celui du sol non traité dans le groupe « b ».

I.6.2 Elongation racinaire

L'élongation racinaire des graines du blé dur cultivées sur les différents sols est illustrée par la figure suivante.

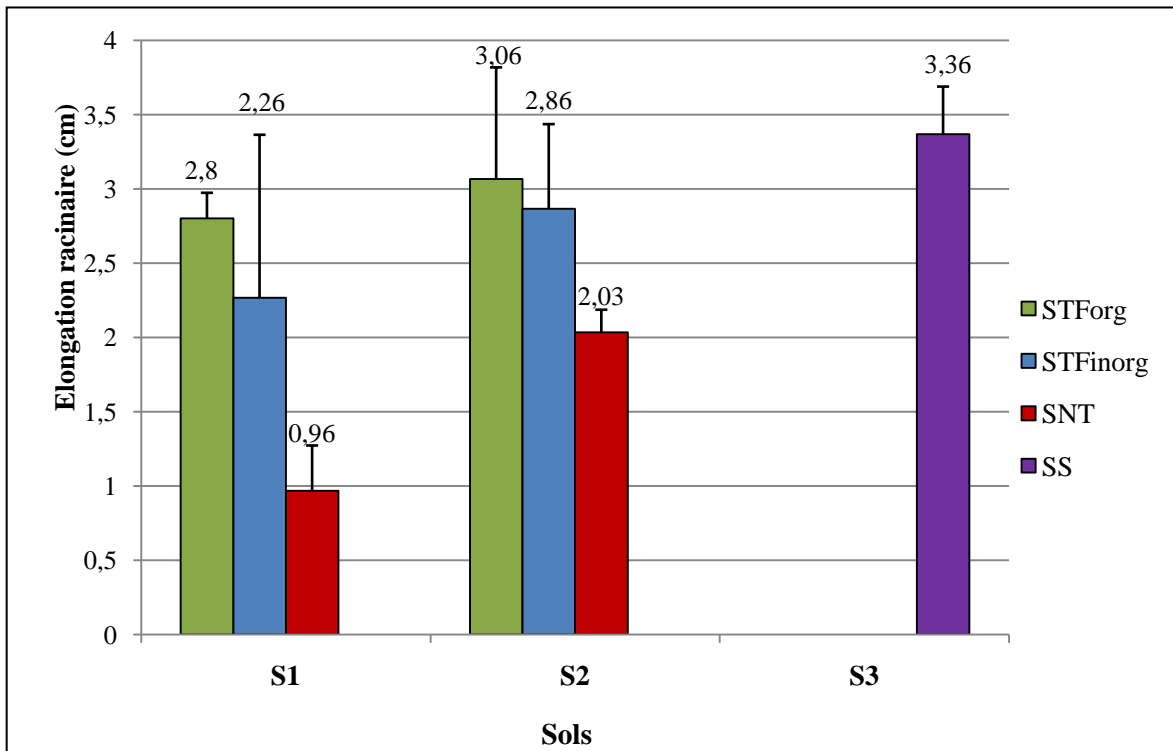


Figure16: Elongation racinaire des graines du blé dur cultivées sur les différents sols.

D'après la figure 16, l'élongation racinaire présente une valeur moyenne de 3,36 cm au niveau du sol sain (S3) et elle est de l'ordre de 2,8 cm pour le sol S1 et 3,06 cm pour le sol S2 traités par les fertilisants organiques. Les valeurs enregistrées pour les sols traités par les fertilisants inorganiques sont respectivement de 2,26 cm pour S1 et 2,86 cm pour S2. Quant aux sols non traités (SNT), nous avons enregistré une élongation racinaire de 0,96cm pour S1 et 2,03 cm pour S2.

L'analyse de la variance (Anova) de l'élongation racinaire révèle qu'il y a une différence hautement significative pour le facteur sol ($P=0.0024471$) et une différence très hautement significative pour le facteur traitement ($P=0.0003341$). Elle n'a révélé aucune différence pour l'interaction sol-traitement ($P=0.6475138$).

Le test de Newman-Keuls a fait ressortir trois groupes homogènes pour le facteur sol (Annexe X). Les valeurs obtenues dans le sol S3 sont représentées dans le groupe « a », celles enregistrées dans le sol S2 dans le groupe « ab » et celles obtenues dans le sol S1 dans le groupe « b ».

Quant au facteur traitement, deux groupes homogènes ont été faits ressortir. Le groupe « a » rassemble les valeurs obtenues dans le sol sain (S3), celles du sol traité par les fertilisants organiques ainsi que celles du sol traité par les fertilisants inorganiques. Le groupe « b » renferme les valeurs enregistrées au niveau du sol non traité.

II. Discussion

D'après les teneurs des sols S1 et S2 en hydrocarbures, nous déduisons que ces derniers sont effectivement contaminés car leurs teneurs dépassent la valeur limite des hydrocarbures dans le sol qui est de 0,1g/kg du sol (Gobat *et al.*, 2003).

Les résultats des analyses physico-chimiques montrent que la pollution par les hydrocarbures peut avoir des effets sur les propriétés du sol. En effet, cette pollution conduit à une baisse de la capacité maximale de la rétention d'eau (CMR), ce qui serait dû, pour Kaboré-Ouédraogo *et al.* (2010), au fait que les hydrocarbures recouvrent les particules du sol empêchant ainsi la rétention d'eau.

Nos résultats s'opposent, par contre, à ceux de Burckhard *et al.* (2004) qui ont déduit que la CMR augmente avec la pollution du sol en hydrocarbure.

Les résultats du dosage du pH ont révélé une légère augmentation de l'acidité en allant du sol non pollué au sol très pollué. Ceci a été approuvé par le travail de Koller (2004).

Cette augmentation a pour origine les faibles quantités d'acide contenues dans les hydrocarbures ou à l'oxydation des n-alcanes et la rupture des noyaux aromatiques selon Bergue (1985), ou encore à la production des acides lors de la dégradation des composés carbonés par les microorganismes (Alexander, 1977).

Le taux du carbone et de matière organique sont élevés au niveau des sols pollués. Ceci concorde avec les résultats de Dib et Sadoudi Ali ahmed (2020).

Selon Jobson *et al.* (1974) l'augmentation du carbone organique dans les sols pollués aux hydrocarbures s'explique, éventuellement, par la richesse du polluant en carbone. D'après Kaboré-Ouédraogo *et al.* (2010), la teneur en matière organique totale dans le sol est directement proportionnelle à l'augmentation des teneurs en hydrocarbures.

Quant à l'azote, sa teneur s'avère plus importante dans le sol sain que dans les sols pollués. Des résultats similaires ont été obtenus par Amadi *et al.* (1993) et Devatha (2019) qui expliquent ce déficit en azote dans le sol pollué aux hydrocarbures par l'augmentation du carbone organique dans le sol en raison de la pollution, engendrant ainsi une forte activité biologique puis une diminution des concentrations d'azote.

Brady et Weil (1999) ont conclu que pendant la dégradation des hydrocarbures, l'azote peut être perdu dans l'atmosphère suite à des réactions de réduction biochimique très répandues et provoquées par des bactéries dé-nitrifiantes tel que les *Pseudomonas*.

Les ratios C/N très élevés dans les sols S1 et S2 pollués par les hydrocarbures par rapport au sol sain (S3), sont à mettre en relation avec les fortes teneurs en carbone. Les mêmes résultats ont été obtenus par Técher (2011).

Kaboré-Ouédraogo *et al.* (2010) expliquent l'augmentation du rapport C/N en présence d'hydrocarbures, par la richesse de ces derniers en carbone. La présence des hydrocarbures dans le sol peut également entraîner une baisse de la vitesse de dégradation du polluant suite au déséquilibre du rapport C/N.

Nous pouvons déduire que les sols étudiés sont caractérisés par des propriétés physico-chimiques permettant l'optimisation de la dégradation biologique des hydrocarbures.

Concernant la microflore des sols étudiés, les dénombrements montrent que le nombre total de bactéries dans les sols S1 et S2 semble plus élevé que dans le sol S3. Une même tendance est observée pour le nombre de champignons. Cela pourrait s'expliquer par la forte teneur de ces sols en carbone suite à leur pollution aux hydrocarbures. Amir *et al.* (1987) ont observé des résultats similaires, ils ont avancé que l'imprégnation des sols en hydrocarbures a pour effet une multiplication intense de la microflore.

Foster et Coll (1983) in Chantigny et Angers (2005) constatent que la distribution des microorganismes n'est pas homogène dans le sol, certains germes peuvent se retrouver sous formes de micro-colonies en état de dormance et une multiplication rapide de ces derniers aura lieu dès qu'il y ait une source d'énergie dans le milieu.

Les travaux de Varjani et Upassani (2016) ont démontré que les microorganismes qui dégradent les hydrocarbures sont présents dans de nombreux environnements. Cependant, leur abondance est largement influencée par leur exposition aux hydrocarbures.

Certains microorganismes pourraient trouver un avantage dans les conditions de contamination et même avoir la capacité de dégrader les contaminants (Fayeulle, 2013) dont les bactéries dites hydrocarbonoclastes et certains champignons qui utilisent les hydrocarbures pétroliers comme seule source de carbone (Sauret, 2011).

En comparant les résultats du dénombrement de la microflore du sol, il ressort que le nombre de bactéries est plus important que le nombre de champignons, ce qui est probablement dû aux conditions physico-chimiques des sols. L'alcalinité du sol expliquerait la faible densité des champignons par rapport aux bactéries. En effet les champignons présentent une certaine particularité vis-à-vis du pH, ils préfèrent les environnements acides (Huber et Schaub, 2011). Par contre, l'ubiquité des bactéries leur permet de coloniser des milieux différents et d'être actives pour de grands domaines d'alcalinité et d'acidité (Dommergues et Mangenot, 1970).

En ce qui concerne l'évolution des hydrocarbures durant la période de traitement, la diminution enregistrée au niveau de tous les sols est probablement due à leur dégradation par les microorganismes du sol. En effet et selon Jobson et *al.* (1974), les bactéries et les champignons ont une capacité métabolique qui leur permet d'utiliser le carbone du pétrole pour la synthèse cellulaire.

Le taux d'élimination des carburants diffère d'un sol à un autre. Ainsi, la dégradation a été accélérée par l'ajout des nutriments. Cependant, le taux et la vitesse de dégradation dépendent de la teneur initiale des sols en hydrocarbures et du type de traitement.

La biodégradation élevée dans les sols traités par les fertilisants atteste de l'amélioration des conditions nutritives par l'ajout de N, P et du fumier de volaille. Selon Romaniuk et *al.* (2011), la biodégradation des hydrocarbures est accélérée par la biostimulation.

L'utilisation de l'azote et du phosphore par les bactéries pour dégrader les hydrocarbures a été prouvée par Ayotamuno et *al.* (2006) qui ont constaté que les teneurs en azote et en phosphore diminuent avec la prolongation de la période de traitement.

Reis et *al.* (2010) rapportent que l'azote et le phosphore sont des éléments limitant la dégradation des hydrocarbures dans les environnements aérobies.

Plusieurs travaux dont celui de Oultaf (2014) et Tangahu et *al.*(2020) ont rapporté que l'apport de fertilisants inorganiques (N, P) aux sols contaminés par les hydrocarbures contribue à leur assainissement. L'effet stimulateur du fumier de volaille est également prouvé par les travaux d'Atagana (2004), d'Alvarez-Bernal et *al.* (2006) et de Fokou Mbogne (2017). De même, Aubert (1998) atteste que le composte de fumier de volaille comporte des quantités importante en azote qui est considéré comme facteur limitant de la biodégradation.

La légère dégradation des hydrocarbures dans les sols non traités serait due, selon Mulligan et Yong (2003) au phénomène de bioremédiation intrinsèque ou l'atténuation naturelle qui consiste en l'utilisation des processus naturels pour réduire la concentration des polluants. Cette dernière peut ne pas être suffisante pour la remédiation des sites contaminés, pour cela, elle est le plus souvent combinée à d'autres procédés de dépollution dont la biostimulation pour améliorer le taux de remédiation (Mulligan, 2002).

Le taux d'élimination des carburants était maximal au cours des premiers dix jours du traitement, ceci est supposé être dû, pour Mariano et *al.*(2007), à la minéralisation facile et rapide des hydrocarbures légers par les microorganismes dans un premier temps. Les hydrocarbures avec un poids moléculaire élevé demandent, en revanche, plus de temps.

Selon Juhasz (2008), la biodégradation des hydrocarbures suit une courbe biphasique ; la première phase est caractérisée par une diminution rapide des hydrocarbures suite à la stimulation des microorganismes alors que, la seconde représente une dégradation lente où les fractions accessibles sont déjà éliminées. La biodisponibilité des molécules restantes représente le facteur limitant de la biodégradation.

Une durée de traitement de 40 jours était largement suffisante pour une élimination totale des hydrocarbures du sol S2 contrairement au sol S1. Cela pourrait être lié à la différence du niveau de contamination entre les deux sols. La dégradation des hydrocarbures dépend du temps et de leur teneur initiale (Margesin et *al.*, 2007).

En comparant le taux de dégradation des hydrocarbures après 40 jours de traitement entre les sols traités par les fertilisants inorganiques (N, P) et les sols traités par les fertilisants organiques (fumier de volaille), il s'avère que le fumier de volaille est le plus efficace que les nutriments N et P en termes de biostimulation, contrairement aux résultats de Tannee et Kinako (2008) qui ont conclu que la dégradation la plus importante des hydrocarbures a été obtenue en utilisant le N et P comme fertilisants.

Le fumier de volaille, en plus de son effet stimulateur des microorganismes indigènes par l'apport de nutriments tels que l'azote et le phosphore, il apporte des microorganismes (bioaugmentation) ainsi que des agents structurants qui favorisent l'aération du sol améliorant ainsi la dégradation des polluants (Fokou Mbogne, 2017).

Le taux de germination atteint lors de cette étude, reflète le degré de toxicité des hydrocarbures résiduels. Kellas (2008) a rapporté que, le blé est une espèce sensible à la pollution par les hydrocarbures. Ces polluants réduisent, en effet, la mouillabilité des sols engendrant, par la suite, une inhibition de la germination des graines de blé (Amakiri, 1983 et Udo, 1975 in Chaineau et *al.*, 1997).

D'après Udo (1975) in Chaineau et *al.* (1996), les réactions métaboliques des graines peuvent être altérées par la pénétration des carburants. L'amélioration du taux de germination dans les sols remédiés par rapport aux sols non remédiés serait due à la réhabilitation de la qualité biologique du sol suite à la dégradation des hydrocarbures après la biostimulation.

Dans le même contexte, l'ajout des fertilisants a considérablement augmenté l'élongation racinaire en créant des conditions physico-chimiques et biologiques favorables à la croissance des graines.

Njoko et *al.* (2009) expliquent l'élongation racinaire faible dans les sols pollués, par le changement des propriétés du sol et la diminution des éléments nutritifs en présence des hydrocarbures. L'hydrophobicité des carburants réduit les échanges d'eau et de gaz (Chaineau et *al.*, 1997).

Conclusion

Ce travail a été réalisé dans le but de mettre en évidence la technique de biostimulation pour remédier un sol pollué par les hydrocarbures. Il a permis de mettre en exergue l'efficacité de l'apport de N, P et du fumier de volaille à stimuler les microorganismes du sol afin d'éliminer les hydrocarbures contenus dans les terres polluées.

Nous avons étudié la biodégradation des hydrocarbures dans des sols contaminés à différentes concentrations après leur biostimulation. Un suivi dans le temps nous a renseigné sur l'état d'avancement de l'élimination des contaminants.

Dans un premier temps, une étude physico-chimique et microbiologique a été réalisée dans le but de caractériser les sols étudiés avant le traitement. Il en est ressorti que les paramètres physico-chimiques des sols sont influencés par la présence des hydrocarbures; La capacité maximale de la rétention d'eau, le pH et l'Azote total diminuent avec la pollution. La matière organique et le carbone total ainsi que le rapport C/N augmentent avec l'augmentation des teneurs en hydrocarbures.

Par ailleurs, l'étude microbiologique montre que les sols pollués sont les plus riches en microorganismes.

En outre, le suivi dans le temps de la concentration en carburants pendant le traitement a montré que la biostimulation a amélioré la dégradation des hydrocarbures. Les teneurs les plus élevées des sols en hydrocarbures demandent plus de temps pour être éliminées contrairement aux plus faibles.

Il a été révélé que le fumier de volaille est le plus efficace en termes de stimulation biologique des sols pollués aux hydrocarbures.

Les résultats des tests de phytotoxicité (la germination et l'élongation racinaires) reflètent la réussite de la technique de remédiation utilisée dans notre étude. Les taux de germination (93,33% et 90%) et l'élongation racinaire les plus importants sont enregistrés au niveau des sols traités.

De nombreuses perspectives peuvent être proposées à l'issue de ce travail :

- Une étude détaillée sur le fumier de volaille utilisé dans cette étude notamment sur ses caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques pourrait fournir des informations pouvant être utiles pour améliorer le traitement.
- Pour avoir une idée bien claire sur la cinétique de la dégradation des hydrocarbures et les germes participants à leur élimination, il serait pertinent de faire une caractérisation qualitative des hydrocarbures et une identification des espèces bactériennes et fongiques présentes au niveau des sols contaminés.
- Il serait intéressant d'optimiser les facteurs influant le procédé de la biodégradation tels que la température et l'humidité.
- Pour mettre en évidence l'efficacité de cette technique en dehors des conditions contrôlées du laboratoire, il serait nécessaire d'entreprendre des essais de biostimulation in-situ.
- L'utilisation d'autres engrais biologiques tels que la bouse de vache, les boues d'épuration et le composte peut fournir de nouvelles données pour la politique locale sur le traitement des sols pollués par les hydrocarbures.

Références bibliographiques

- Adipah S., 2019. Introduction of petroleum hydrocarbons contaminants and its human effects. *Journal of environmental science and public health n°3*. pp. 1-9.
- Alexander M. C., 1977. Introduction to Soil Microbiology second edition. 605 thrd avenue New York NY 10016. pp. 18-95.
- Alterre B., 2012. Les sols: des fonctionnalités à mieux connaitre pour une meilleure utilisation. 1^{ère} Ed. 72p.
- Alvarez-Bernal D., Garcia-Díaz E. L., Contreras-Ramos S. M., et Dendooven L., 2006. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil added with manure or vermicompost. *Chemosphere n° 65*. pp. 1642–1651.
- Amadi A., Dickson A. A., et Maate G. O., 1993. Remediation of oil-polluted soils 1. Effect of organic and inorganic nutrient supplements on the performance of maize (*Zea mays* L). *Water, Air and Soil Pollution n° 66*. pp. 59-76.
- Amir H., Rouquerol T., Amir A., 1987. Effete de l'épandage de residu portlier de raffinerie sur l'évolution de la matière organique. L'activité de densité microbienne d'un sol agricole. *Revue d'écologie et de biologie du sol*. pp. 137-156.
- Atagana H. I., 2004. Co-composting of PAH-contaminated soil with poultry manure. *Biotechnology Applied Microbiology n°39*. pp.163-168.
- Aubert C., 1998. Le compostage des fumiers de volailles. *ACTA/ADEME/Ministère de l'Agriculture et de la Pêche*. pp.45-55.
- Ayotamuno M. J., Kogbara R. B., Ogaji S. O. T., et Probert S. D., 2006. Boremediation of a crude-oil polluted agricultural soil at port harcourt, Nigeria. *Appied Energy n°83*. pp.1249-1257.
- Baize D., 1989. Guide des analyses courantes en pédologie. INRA, Paris. 172 p.
- Baize D., 2000. Guide des analyses en pédologie. 2^{ème} Ed. Techniques et pratiques INRA 6380Edition. Paris. 412p.
- Benaouda S., et Ouared L., 2017. Conservatoire de musique, danse et art dramatique à Azeffoun. Mémoire de master. Architecture et environnement. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.79p.

- Bergue J. M., 1985. La pollution des sols par les hydrocarbures. Service physique-génie urbain, Laboratoire régionale de Rouen. pp. 57- 64.
- Bidaud C., 1998. Biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Approche microbiologique et application au traitement d'un sol pollué. Thèse de doctorat. Génie des procédés. Saint-Etienne : école nationale supérieure des mines. 218 p.
- Blum W. E. H., 2005. Functions of Soil for Society and the Environment. *Environ. Sci. Biotechnol.* n°4. pp.75–79.
- Bonneau M., et Souchier B., 1994. Pédologie 2, Constituants et propriétés du sol. 2^{ème} Ed., Masson, Paris n°1. 665p.
- Bonneau M., et Souchier B., 1979. Pédologie, Constituants et propriétés du sol. 1^{ère} Ed. Masson, Paris. 459 p.
- Bouderhem, A., 2011. Utilisation des souches bactériennes telluriques autochtones dans la biodétection et la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures. Mémoire de Magister. Microbiologie appliquée. Université kasdi Merbah-Ouargla. 91p.
- Brady N. C., et Weil R. R., 1999. The Nature and properties of Soils. 12th ed., Prentice Hall Publishers, London. pp. 1-9.
- Brouillet L., Coursol F., et Favreau M., 2006. VASCAN. The database of Canadian vascular plants. Herbar Marie-Victorin, Institut de recherche en biologie végétale, Université de Montréal.
- Burckhard S. R., Pirkl D., Kulakow P., et Leven B., 2004. A study of soil water-holding properties as affected by TPH contamination. *Proceedings of the 2000 Conference on Hazardous Waste Reasearch* . pp. 356-359.
- Chaineau C. H., Morel J. L., et Oudot J., 1996. Land traitment of oil based drill cuttings in an agricultural soil, *Journal of Environmental Quality* n°25. pp. 858-867.
- Chaineau, C. H., Morel, J. L., et Oudot, J., 1997. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. *Journal of environmental quality* n°26(6). pp. 1478-1483.

Chantigny M. et Angers D., 2005. Activité microbiologique et qualité des sols : quoi de neuf sous nos pieds. Centre de référence en agriculture et agroalimentaire de Québec (CRAAQ). 10p.

Colombano S., Saada A., Guerin V., Bataillard P., Bellenfant G., Beranger S., Hube D., Blanc C., Zornig C., et Girardeau I., 2010. Quelles techniques pour quels traitements - Analyse coûts-bénéfices. Rapport final BRGM-RP-58609-FR. 402p.

Da silva I. G. S., Almeida F. C. G. D., Silva Nathalia M. P. D., Cassaza A. A., Converti A. et Sarubbo L. A., 2020. Soil Bioremediation: Overview of Technologies and Trends. *Energies* n°13. pp.1-25.

Devatha C. P., Vishal A. V., Rao J. P., 2019. Investigation of physical and chemical characteristics on soil due to crude oil contamination and its remediation. *Applied Water Science* n°89. pp.1-10.

Dib D., et Sadoudi Ali ahmed D., 2020. Changes in Plants and Invertebrate Animals Communities along Gradients of Petroleum Products Pollution. *Environmental Research Engineering and Management (EREM)* n°76. pp. 44-57.

Djerbaoui A. N., 2011. Utilisation de souches bactériennes autochtones dans la production de biosurfactant et la bioremediation des sols de Hassi Messaoud contaminés par les hydrocarbures. Mémoire de Magistère. Microbiologie Appliquée. Université Kasdi Merbah- Ouargla.76p.

Dommergues Y. et Mangenot F., 1970. Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie Edition, Paris. 796 p.

Duchaufour P., 1995. Pédologie sol, végétation, environnement. éd. Masson, 4ème édition, Paris. 324 p.

Fattal P., 2008. La pollution des cotes par les hydrocarbures. Edition Presse universitaire de Rennes. 400 P.

Fayeulle A., 2013. Etude des mécanismes intervenant dans la biodégradation des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques par les champignons saprotrophes telluriques en vue d'applications en bioremédiation fongique de sols pollués. Thèse de doctorat.

Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement. Université du littoral-Côte-d'Opale. 194p.

Fingas M., 2013. The Basics of Oil Spill Cleanup. 3^{ème} Ed. CRC Press, États-Unis. 286 p.

Fokou Mbogne P., 2017. Biorémediation augmentée de sols contaminés aux hydrocarbures lourds par ajout de substrats organiques. Mémoire de master. Génie de l'environnement. École de technologie supérieure université de Québec. 79p.

Gennadiev A. N., Kozin I. S., et Pikoski Y. L., 1997. Pedochemistry of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Eurasian Soil Science* n° 30. pp. 249-257.

Girard M. C., Walter, C., Rémy, J. C., Berthelin, J., et Morel, J.-L., 2011. Sols et environnement. 2^{ème} édition. Dunod. 881 p.

Gobat J. M., Aragno M. et Mathey W., 2003. Le sol vivant, bases de pédologie, biologie des sols. 2^{ème} édition. Edition Press polytechnique et universitaire. Romandes. 568 p.

Gobat J. M., et Mathey W., 2010. Le sol vivant : Base de pédologie-biologie des sols. 3^{ème} Ed. Revue et augmenté. 498p.

Goswami M., Prosun T., Chakraborty P., Mukherjee K., Mitra G., Bhattacharyya P., et Dey S., 2018. Bioaugmentation and Biostimulation: A Potential Strategy for Environmental Remediation. *Journal of Microbiology & Experimentation* n°6. 5p.

Guermouche A., 2014. Caractérisation moléculaire des bactéries impliquées dans la biodégradation des hydrocarbures. Microbiologie. Thèse de doctorat. Université d'Oran. 166p.

Havugimana E., Bhople B.S., Kumar A., Byiringiro E., et Mugabo J.P., 2015. Soil Pollution - Major Sources and Types of Soil Pollutants. *Environmental Sci. & Eng* n° 11. pp.53-86.

Huber G., et Schaub C., 2011. La fertilité des sols: l'importance de la matière organique. chambre de l'agriculture Bas Rhin. 46p.

Jeannot R., Lemièrre B., Chiron S., Augustin F., et Darmendail D., 2000. Guide méthodologique pour l'analyse des sols pollués. 4^{ème} Ed., Rapport du BRGM /RP-50128-FR. 109p.

Jobson A., Mclaughlin M., Cook F. D., et Westlake D. W. S., 1974. Effect of Amendments on the microbial utilization of oil applied to soil. *Applied Microbiology* n° 27. pp.166-171.

Juhasz A. L., 2008. Can bioavailability assays predict the efficacy of PAH bioremediation. *Developments in soil science* n° 32. pp. 569-587.

Kaboré-Ouédraogo P. w., Savadogo P. w., Ouattara C. A. T., Savadogo A., et Traoré A. S., 2010. Etude de la Bio dépollution de sols contaminés par les Hydrocarbures au Burkina-Faso. *Institut de l'environnement et de Recherche Agricoles(INRA)* n°30. pp. 19-28.

Kellas K., 2008. Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis du blé dur (*Triticum durum*), du pois vivace (*Lathyrus latifolius*) et de la microflore du sol. Essai de phytoremédiation. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 69 p.

Koller E., 2004. Traitements des pollutions industrielles. Eau. Air. Déchets. Sols. Boues. Edition DONUD. Paris. 424 pp.

Koshlaf E., et Ball A., 2017. Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments. *AIMS Microbiology* n°3(1). pp. 25-49.

Lecompte P., 1995. Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines. Edition lavoisier, TEC et DOC. 198p.

Lemière B., Seguin J. J., Le Guern C., Guyonnet D., Baranger Ph., 2001. Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes -BRGM.

Lima S. D., Oliveira A. F., Golina R., Lopes V. C. P., Caixeta D. S., Lima Z. M., et Morais E. B., 2020. Isolation and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria from gas station leaking-contaminated groundwater in the Southern Amazon, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* n°80. pp.354-361.

Louati H., 2013. Etude de la bioremédiation des sédiments contaminés par des hydrocarbures aromatiques polycyclique : Impacte écologique sur la microflore et la méiofaune de la lagune de Bizerte. Thèse de doctorat. Science biologique. Université de Carthage et Montpellier II. 180p.

Maamar A., 2015. Etude de la biodégradation du pétrole brut par le peuplement fongique du port d'Oran. Mémoire de Magister. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université d'Oran. 128 p.

- Margesin R., Hämmerle M., et Tscherko D., 2007. Microbial activity and community composition during bioremediation of diesel-oilcontaminated soil: effects of hydrocarbon concentration, fertilizers, and incubation time. *Microb. Ecol.* n°53(2). pp. 259-269.
- Mariano A. P., kataoka A. A. G., Angelis D. F., et Bonotto D. M., 2007. Laboratoru study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil from a petrol station. *Brazilian Journal of Microbiology* n° 38. pp. 346-353.
- Mazziotti M., 2017. Impact des exsudats racinaires de *Miscanthus x giganteus* sur les microorganismes impliqués dans la bioremédiation d'un sol contaminate au benzo anthracène. Thèse de doctorat. Ressources, Procédés, Produits, Environnement. Université de Lorraine. Collegium Sciences et Technologies Ecole Doctorale RP2E. 89p.
- Morais E. B., et Tauk-tornisielo S. M., 2009. Biodegradation of oil refinery residues using mixed-culture of microorganisms isolated from a landfarming. *Brazilian Archives of Biology and Technology* n°52. pp. 1571-1578.
- Mulligan C. N., 2002. Environmental biotretment: technologies for air water soil and wasts. Government institutes. illustrated edition. 395p.
- Mulligan C. N. et Yong R. N. 2003. Natural attenuation of contaminated soils. *Environment international* n°30. pp. 587-601.
- Nait abdelkader S. et Djenad M., 2015. Essai de remédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par biostimulation Cas des stations-service. Mémoire de master. Protection de l'environnement. U.M.M.T.O. 55p.
- Neff J. M., 1979. Polycyclique aromatic hydrocarbons in the aquatic environment: source, fat and biological affect. Applied Science Publishers Ltd, Essex, England. 262 p.
- NF ISO 11261., 1995. Azote total méthode Kjeldhal.
- NF ISO 7218/A1., 2001. Comptage des colonies et expression des résultats.
- NF X 31-109., 1993. Détermination du carbone organique total par méthode ANNE NF X 31-109.
- Njoko K. L., Akinola M. O., et Oboh B. O., 2009. Phytoremediation of crude oil contaminated soil the effect of growth of glycine max on physicochemicaland crude oil contents of the soil. *Natur and science* n°10. pp. 79-87.

Nortcliff S., Hulpke H., Bannick C. G., Terytze K., Knoop G., Bredemeier M. et Schulte-Bisping H., 2012. Soil, 1. Definition, Function, and Utilization of Soil. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. pp. 399-420.

Ogboghodo I. A., Erebor E.B., Osemwota I. O., et Isitekhale H. H. 2004. The effects of application of poultry manure to crude oil polluted soils on maize (*Zea mays*) growth and soil properties. *Environ. Mon. Assess. n° 9*. 153p.

Origon N., Wichherec S. et Hoyat M., 2012. Réhabilitation des sites pollués par phytoremédiation. Revue électronique en science de l'environnement. *Vertigo. n°12*. pp. 40-51.

Oultaf L., 2014. Etude comparative de l'efficacité de trois techniques de remédiation (phytoremédiation, biostimulation, bioaugmentation) sur des sols pollués par les carburants. Mémoire de magister. Ecologie végétale appliqué et gestion de l'environnement. Université de Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou. 90p.

Paul E. A., Clark P. E., 1989. Soil microbiology and biochemistry. Academic Press, New York. 66p.

Reis S., Gonc-rochaa S. L., Chapeaurouge D. A., Domonta G. B., Santa-annal M. M., Guimares-freired D. M., et Perales J., 2010. Effects of carbon and nitrogen sources on the proteome of *Pseudomonas aeruginosa* PA1 during rhamnolipid production Process. *Biochemistry n°45*. pp.1504–1510.

Romaniuk R. A., Guifre L., et Rosario R., 2011. A soil quality index to evaluate the vermin-compost amendement effets on soil propreties. *Journal of environmental Protection n°2*. pp. 502-510.

Saada A., Nowak C., et Coquereau N., 2005. Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures. Rapport du BRGM/RP- 53739-FR. 107p.

Sauret C., 2011. Ecologies des communautés bactériennes marines soumises à une pollution pétrolière Influence des facteurs environnementaux, de la prédation et de la récurrence des pollutions. Thèse de doctorat. Microbiologie environnementale. Université pierre et marie curie. 287p.

- Selmoun M., et Benkhebeche D. E., 2016. Contribution à l'étude de la biodégradation des hydrocarbures dans les boues de forage par des bactéries productrices de biosurfactants. Mémoire de master. Microbiologie. Université des Frères Mentouri Constantine. 46p.
- Soltani M., 2004. Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram- négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse de Doctorat. Chimie Analytique. Université de Paris 6. 284p.
- Solter D., 1990. Les grandes productions végétales. 17^{ème} édition. Edition science et techniques agricoles. pp. 325-353.
- Soltner D., 1996. Les bases de la production végétale : le sol, le climat, la plante. Le sol et son amélioration, volume 1. 21^{ème} Ed Science et techniques agricoles. 464 p.
- Stout S. A., 2003. Applications of petroleum fingerprinting in known and suspected pipeline releases two case studies. *Appl Geochem.* pp. 915–926.
- Tanee F. B. G., Kinako P.D.S., 2008. Comparative Studies of Biostimulation and Phytoremediation in the Mitigation of Crude Oil Toxicity in Tropical Soil J. *Appl. Sci. Environ. Manage n° 12(2)*. pp.143 – 147.
- Técher D., 2011. Réhabilitation de sols pollués par des HAP grâce aux bactéries associées à la rhizosphère de *Miscanthus X giganteus*. Thèse de doctorat. Toxicologie de l'environnement. Université Paul Verlaine de Metz. 307p.
- Truskewycz A., Gundry T. D., Khudur L. S., Kolobaric A., Taha M., Aburto-Medina A., et Shahsavari E., 2019. Petroleum Hydrocarbon Contamination in Terrestrial Ecosystems Fate and Microbial Responses. *Molecules n°24 (18)*. pp. 1-20.
- Van der Perk M., 2006. Soil and Water Contamination: From Molecular to Catchment Scale. 1^{ère} Ed. Taylor & Francis Group, London. 689p.
- Varjani S. J., Upassani V.N., 2016. Carbon spectrum utilisation by an indigenous strain of *Pseudomonas aeruginosa* NCIM 5514: production, characterization and surface active properties of biosurfactant. *Bioressor. Technol, n°221*. pp.510-516.
- Varjani S. J., 2017. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology n°223*. pp. 277-286.

Verdin A., Hadjsahraoui L., et Durand R., 2004. Les agents de la bioremediation des sols pollués par les hydrocarbures polycycliques aromatiques. *Revue francophone d'écologie industrielle*, n° 36. pp. 30-37.

Zmirou D., Beausoleil M., de Conink P., Déportes I., Dor F., Empereur-Bissonnet P., Hours M., Keck G., Lefebvre L., et Rouisse L., 2003. Déchet et sol pollués. Environnement et santé publique – Fondements et pratiques. pp.379-440.

CDTM 34, 12/05/2012. Les hydrocarbures dans l'économie algérienne. « <https://www.ritimo.org/Les-hydrocarbures-dans-l-economie-algerienne> ». 24/08/2021.

Mayer N., 06/08/2019. Des sols pollués au pétrole lourd décontaminés et redus fertiles. «<https://www.futura-sciences.com/planete/actualites/pollution-sols-pollues-petrole-lourd-decontamines-rendus-fertiles-74897/> ». 07/08/2021.

Ouramdane M., 14/04/ 2021. «<https://www.algerie-eco.com/2021/04/14/energie-hausse-des-prix-du-petrole-algerien/> ». 24/08/2021.

QuentinM.,Futura.planète.« <https://www.futura-sciences.com/planèt/définitions/developpement-durable-bioremediation-14291/>»
18/06/2021.

Annexes

Annexe I : Préparation des milieux de culture

- Potato Dextrose Agar (PDA)

Constituants :

200 g de Pomme de terre

20 g du Glucose

08g de NutrintBorth

20 g d'Agar Agar

Eau distillée

Préparation :

Faire bouillir la pomme de terre coupée en petits morceaux pendant 20 à 25 minutes dans 500 ml d'eau distillée. Ensuite récupérer le bouillon de pomme de terre après filtration.

Dissoudre l'Agar Agar, le Glucose et le NutrintBorth dans 500 ml d'eau distillée puis ajouter le bouillon.

Ajuster ensuite le volume du mélange au moyen de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml.

Mettre à feu la préparation et laisser bouillir pendant 1 min.

Auto-claver à 121°C pendant 15 min.

.

- Le milieu de culture des bactéries

Constituants :

08g de NutrintBorth.

20g d'Agar Agar.

1000 ml d'eau distillée.

Préparation :

Dissoudre l'Agar Agaret le NutrintBorth dans l'eau distillée.

Mettre à feu la préparation et laisser bouillir pendant 1 min.

Auto-claver le mélange à 121°C pendant 15 min.

Annexe II : Normes d'interprétation des analyses physicochimique

- Normes d'interprétation du pH (Baize, 1989).

Valeur de Ph	Quantification
<4	Extrêmes acide
4 à 5	Très fortement acide
5,1 à 5,5	fortement acide
5,6 à 6,5	Faiblement acide
6,6 à 7,3	Neutre
7,4 à 7,8	Légèrement alcalin
7,9 à 8,4	Moyennement alcalin
8,5 à 9	Fortement alcalin
>9,1	Très fortement alcalin

- Normes d'Interprétation de la CE (Baize, 2000).

Conductivité électrique mmhos/cm	Désignation
<2,5	Non salé
2,5 – 5	Faiblement salé
5 – 10	Moyennement salé
10 – 15	Salé
15 – 20	Fortement salé
20 – 27,5	Très fortement salé
27,5 – 40	Excessivement salé
> 40	Hyper salé

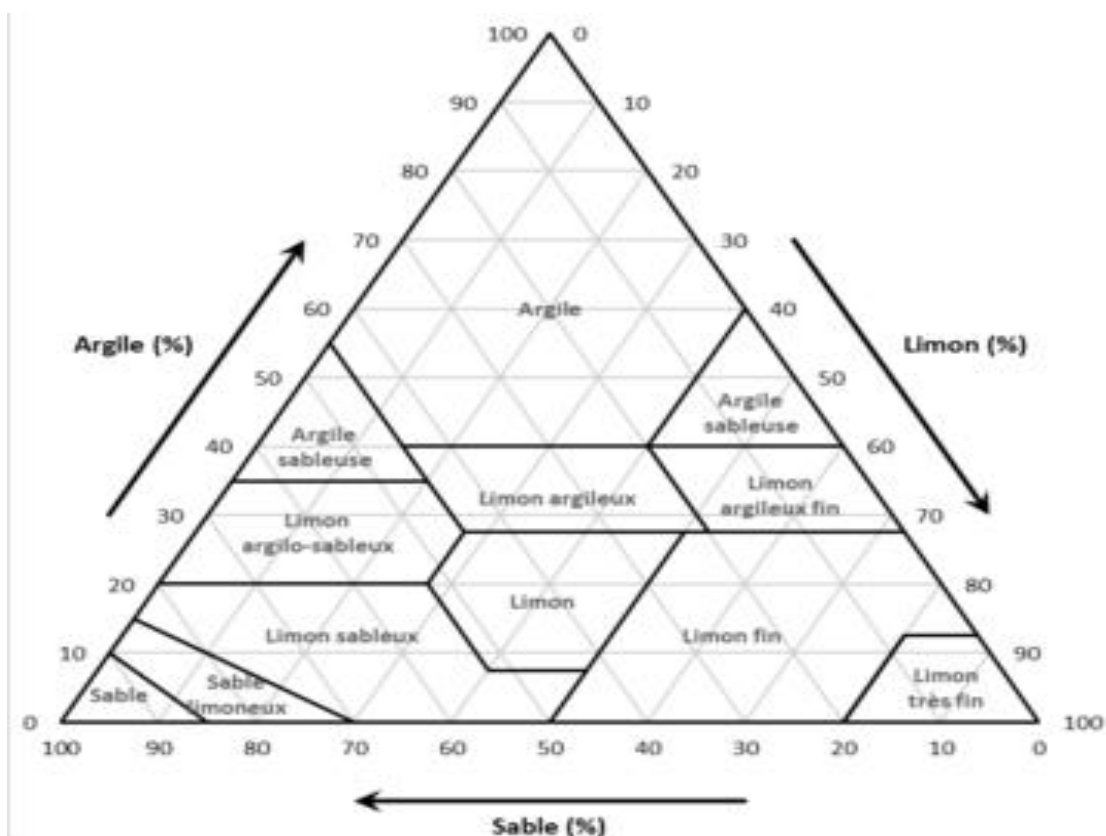
- Normes d'interprétions de l'azote totale (%) selon Kjeldhal.

Taux d'azote	Quantification
<0,05	Très faible
0,05 – 0,09	Faible
0,1 – 0,15	Moyenne
0,15	Elevé

- Normes d'interprétation de la teneur en matière organique selon le Mémento de l'agronome, 1993.

Taux en argile %	Taux souhaitable de matière organique en %
<10	3 – 3,5
10– 15	2,53
15 – 20	2 – 2,5
20 – 25	2,5
25 – 30	2,5 – 3
>30	3 – 3,5

- Triangle de texture du sol (Bonneau et Souchier, 1979)



Annexe III : Résultats bruts des la quantité initiale des hydrocarbures dans les sols

Tableau 01 : Les teneurs initiales en hydrocarbure dans les sols.

Teneures en hydrocarbures dans 20g de sol (g/g)	t = 0 _{JOURS}	Moyenne (X)
S1	0,24	0,24
S1	0,23	
S1	0,26	
S2	0,09	0,08
S2	0,06	
S2	0,09	

- S1

Tableau 02 : Résultats du suivi de la teneur en hydrocarbure dans S1 témoin.

Suivi	t = 10 _{Jours}	t = 20 _{Jours}	t = 30 _{Jours}	t = 40 _{Jours}
Répétition1	0,22	0,16	0,07	0,07
Répétition2	0,18	0,16	0,15	0,15
Répétition3	0,22	0,18	0,16	0,16
Moyenne (X)	0,20	0,16	0,12	0,12

Tableau 03 : Résultats du suivi de la teneur en hydrocarbure dans S1 traité par N et P.

Suivi	t = 10 _{Jours}	t = 20 _{Jours}	t = 30 _{Jours}	t = 40 _{Jours}
Répétition1	0,10	0,04	0,04	0,04
Répétition2	0,08	0,10	0,04	0,02
Répétition3	0,14	0,12	0,06	0,06
Moyenne (X)	0,10	0,08	0,04	0,04

Tableau 04 : Résultats du suivi de la teneur en hydrocarbure dans S1 traité par le fumier de volaille.

Suivi	t = 10 Jours	t = 20 Jours	t = 30 Jours	t = 40 Jours
Répétition1	0,12	0,18	0,02	0
Répétition2	0,10	0,02	0	0
Répétition3	0,10	0,10	0,06	0,04
Moyenne (X)	0,10	0,06	0,02	0,01

- S2

Tableau 05 : Résultats du suivi de la teneur en hydrocarbure dans S2 témoin.

Suivi	t = 10 Jours	t = 20 Jours	t = 30 Jours	t = 40 Jours
Répétition1	0,08	0,06	0,04	0,03
Répétition2	0,04	0	0	0
Répétition3	0,06	0,04	0,02	0
Moyenne (X)	0,06	0,03	0,02	0,012

Tableau 06 : Résultats du suivi de la teneur en hydrocarbure dans S2 traité par N et P.

Suivi	t = 10 Jours	t = 20 Jours	t = 30 Jours	t = 40 Jours
Répétition1	0,06	0,04	0	0
Répétition2	0,02	0	0	0
Répétition3	0	0	0	0
Moyenne (X)	0,02	0,012	0	0

Tableau 07 : Résultats du suivi de la teneur en hydrocarbure dans S2 traité par le fumier de volaille.

Suivi	t = 10 _{Jours}	t = 20 _{Jours}	t = 30 _{Jours}	t = 40 _{Jours}
Répétition1	0	0	0	0
Répétition2	0,02	0	0	0
Répétition3	0	0	0	0
Moyenne (X)	0,006	0	0	0

Annexe IV : Résultats des analyses de la variance de la quantité initiale des hydrocarbures dans les sols étudiés

```
> reg.aov1=lm(hc~sol,data=x)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: hc
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
sol      2 230.722 115.361  259.56 1.492e-06 ***
Residuals 6   2.667   0.444
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

$groups
      hc groups
S1 12.16667    a
S2  4.00000    b
S3  0.00000    c

attr(,"class")
[1] "group"
```

Annexe V : Résultats des analyses de la variance de la quantité des hydrocarbures durant le période de traitement

- S1 non traité

```
Analysis of Variance Table

Response: sat
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
tmpr    4  78.067 19.5167   6.7688 0.00664 **
Residuals 10 28.833   2.8833
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```

$groups
      sat groups
t0 12.166667    a
t1 10.333333   ab
t2  8.333333   bc
t3  6.333333    c
t4  6.333333    c

attr(,"class")
[1] "group"

```

- S1 traité par N et P

```
> kruskal.test(sanp~tmps)
```

```
      Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data:  sanp by tmps
Kruskal-Wallis chi-squared = 10.79, df = 4, p-value = 0.02903
```

```

$groups
      sanp groups
t0 12.166667    a
t1  5.333333    b
t2  4.333333   bc
t3  2.333333    c
t4  2.000000    c

attr(,"class")
[1] "group"

```

- S1 traité par le fumier de volaille

```
> kruskal.test(saf~tmps)
```

```
      Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data:  saf by tmps
Kruskal-Wallis chi-squared = 11.137, df = 4, p-value = 0.02506
```

```

$groups
      saf groups
t0 12.1666667    a
t1  5.3333333    b
t2  5.0000000    b
t3  1.3333333    b
t4  0.6666667    b

attr(,"class")
[1] "group"

```

- S2 non traité

```

> reg.aov1=lm(sbt~tmpls,data=x)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: sbt
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
tmpls  4 25.067  6.2667  5.3714 0.01426 *
Residuals 10 11.667  1.1667
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

$groups
      sbt groups
t0 4.0000000    a
t1 3.0000000   ab
t2 1.6666667   ab
t3 1.0000000    b
t4 0.5000000    b

attr(,"class")
[1] "group"

```

- S2 traité par N et P

```

> kruskal.test(sbnp~tmpls)

Kruskal-Wallis rank sum test

data:  sbnp by tmpls
Kruskal-Wallis chi-squared = 10.431, df = 4, p-value = 0.03376

```

```

$groups
      sbnp groups
t0 4.0000000    a
t1 1.3333333    b
t2 0.6666667    b
t3 0.0000000    b
t4 0.0000000    b

attr(,"class")
[1] "group"

```

- S2 traité par le fumier de volaille

```

> kruskal.test(sbf~tmpts)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  sbf by tmpts
Kruskal-Wallis chi-squared = 11.894, df = 4, p-value = 0.01816

$groups
      sbf groups
t0 4.0000000    a
t1 0.3333333    b
t2 0.0000000    b
t3 0.0000000    b
t4 0.0000000    b

attr(,"class")
[1] "group"

```

Annexe VI : Résultats de l'analyse de la variance de type de traitement

```

> kruskal.test(tauxdeg~trt)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  tauxdeg by trt
Kruskal-Wallis chi-squared = 1.5338, df = 1, p-value = 0.2155

```

Annexe VII : Résultats brutes des tests de germination

- S1 non traité

Répétitions	Taux de germination %
1 ^{ère} répétition	90
2 ^{ème} répétition	50
3 ^{ème} répétition	80
Moyenne	73,33

- S1 traité par N et P

Répétitions	Taux de germination %
1 ^{ère} répétition	80
2 ^{ème} répétition	90
3 ^{ème} répétition	80
Moyenne	83,33

- S1 traité par le fumier de volaille.

Répétitions	Taux de germination %
1 ^{ère} répétition	90
2 ^{ème} répétition	90
3 ^{ème} répétition	90
Moyenne	90

- S2 non traité

Répétitions	Taux de germination %
1 ^{ère} répétition	90
2 ^{ème} répétition	70
3 ^{ème} répétition	90
Moyenne	83,33

- S2 traité par N et P

Répétitions	Taux de germination %
1 ^{ère} répétition	90
2 ^{ème} répétition	90
3 ^{ème} répétition	90
Moyenne	90

- S2 traité par le fumier de volaille

Répétitions	Taux de germination %
1 ^{ère} répétition	100
2 ^{ème} répétition	90
3 ^{ème} répétition	90
Moyenne	93,33

- S3

Répétitions	Taux de germination %
1 ^{ère} répétition	100
2 ^{ème} répétition	100
3 ^{ème} répétition	90
Moyenne	96,66

Annexe VIII : Résultats bruts de l'élongation racinaire

- S1 non traité

Longueur racinaire (cm)	7 jours	15 jours
1 ^{ère} répétition	9,6	10,5
2 ^{ème} répétition	8,9	9,6
3 ^{ème} répétition	7,1	8,4
Moyenne	8,5	9,5

- S1 traité par N et P

longueur racinaire (cm)	7 jours	15 jours
1 ^{ère} répétition	9,3	12,8
2 ^{ème} répétition	12,2	13,6
3 ^{ème} répétition	11,5	13,4
Moyenne	11	13,2

- S1 traité par le fumier de volaille

longueur racinaire (cm)	7 jours	15 jours
1 ^{ère} répétition	10	12,7
2 ^{ème} répétition	9,3	12
3 ^{ème} répétition	9	12
Moyenne	9,4	12,2

- S2 non traité

longueur racinaire (cm)	7 jours	15 jours
1 ^{ère} répétition	10	12
2 ^{ème} répétition	9,1	11
3 ^{ème} répétition	9	11
Moyenne	9,3	11,33

- S2 traité par N et P

longueur racinaire (cm)	7 jours	15 jours
1 ^{ère} répétition	11	13,4
2 ^{ème} répétition	11,1	13,8
3 ^{ème} répétition	9	12,5
Moyenne	10,2	13,3

- S2 traité par le fumier de volaille

longueur racinaire (cm)	7 jours	15 jours
1 ^{ère} répétition	10,4	14
2 ^{ème} répétition	9,9	13,4
3 ^{ème} répétition	11	14,1
Moyenne	10,4	13,8

- S3

longueur racinaire (cm)	7 jours	15 jours
1 ^{ère} répétition	11	14
2 ^{ème} répétition	10,4	13,9
3 ^{ème} répétition	11	14,5
Moyenne	10,8	14,1

Annexe IX : Résultats des analyses de la variance de taux de germination

- Facteur sol

```

-
> kruskal.test(tauxgerm~sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  tauxgerm by sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 6.8798, df = 2, p-value = 0.03207

$groups
      tauxgerm groups
s3 96.66667      a
s2 88.88889      a
s1 82.22222      a

attr(,"class")
[1] "group"

```

- Facteur traitement

```

> kruskal.test(tauxgerm~trtmnt)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  tauxgerm by trtmnt
Kruskal-Wallis chi-squared = 8.8299, df = 3, p-value = 0.03164

$groups
      tauxgerm groups
aucn 96.66667      a
tfor  91.66667     ab
tfin  86.66667     ab
nt    78.33333      b

```

- Interaction sol-traitement

```
> kruskal.test(tauxgerm~int,data=x)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  tauxgerm by int
Kruskal-Wallis chi-squared = 11.119, df = 6, p-value = 0.08478
```

Annexe X : Résultats des analyses de la variance de l'élongation racinaire

- Test d'Anova

```
> mod.int=lm(elngracn~sol*trtmnt)
> anova(mod.int)
Analysis of Variance Table

Response: elngracn
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
sol         2  4.9803   2.4902   9.5252 0.0024471 **
trtmnt      2  7.8233   3.9117  14.9627 0.0003341 ***
sol:trtmnt  2  0.2344   0.1172   0.4484 0.6475138
Residuals  14  3.6600   0.2614
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

- Groupes pour le facteur sol

```
$groups
  elngracn groups
s3 3.366667     a
s2 2.755556    ab
s1 2.011111     b
```

- Groupes pour le facteur traitement

```
$groups
  elngracn groups
aucn  3.366667     a
tforg  3.083333     a
tfinorg 2.566667     a
nt      1.500000     b
```

Résumé

La dépollution des sols pollués aux hydrocarbures s'oriente de plus en plus vers les techniques biologiques les moins coûteuses et les plus écologiques comme la biostimulation.

Cette l'étude a été menée en vue d'évaluer l'efficacité de deux types de substrats, organique (fumier de volaille) et inorganique (N, P) dans la décontamination des sites pollués par des hydrocarbures. Pour ce faire deux types de sol : S1 (sol très pollué) et S2 (moyennement pollué) ont été soumis à une expérience de biostimulation par le N, P et le fumier de volaille sur une durée de 40 jours. A la fin du traitement, le taux d'élimination des hydrocarbures était de 100% au niveau du sol S2 traité par N et P et traité par le fumier de volaille. Au niveau du sol S1, il était de 94,44% dans le sol traité par le fumier de volaille et 83,33% dans celui traité par N et P. Les analyses des caractéristiques physico-chimiques des sols a montré que la capacité maximale de la rétention d'eau (CMR) et l'azote total présent dans le sol, diminuent avec la teneur des sols en hydrocarbures alors que la matière organique totale, le carbone total et le rapport C/N augmentent avec l'augmentation de la pollution. L'analyse microbiologique des sols révèle que les sols pollués par les hydrocarbures sont les plus chargés en microorganismes.

Mots clés : sols, hydrocarbures, biostimulation, N, P, fumier de volaille.

Abstract

The remediation of hydrocarbon polluted soils is increasingly oriented towards the least expensive and most ecological biological techniques such as biostimulation.

This study was conducted to evaluate the effectiveness of two types of substrates, organic (poultry manure) and inorganic (N, P) in the decontamination of hydrocarbon polluted sites. To do this, two types of soil: S1 (highly polluted soil) and S2 (moderately polluted soil) were subjected to a biostimulation experiment with N, P and poultry manure over a period of 40 days. At the end of the treatment, the rate of hydrocarbon removal was 100% in soil S2 treated with N, P and poultry manure. In the soil S1, it was 94,44% in the soil treated with poultry manure and 83,33% in the one treated with N, P. The analysis of the physico-chemical characteristics of the soils showed that the maximum water retention capacity and the total nitrogen present in the soil decrease with the content of hydrocarbons in the soils, while the total organic matter, total carbon and C/N ratio increase with the increase of the pollution. Microbiological analysis of soils reveals that soils polluted by hydrocarbons are the most loaded with microorganisms.

Key words: soils, hydrocarbons, biostimulation, N, P, poultry manure.