

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques**

Département de Biologie Animale et Végétale

Mémoire

De fin d'études

**Envue de l'obtention du diplôme de master en biologie
Spécialité : Protection de l'Environnement**

Thème

**Contribution a la phyto remediation de sol
des bourbiers de Hassi Massaoud**

Présenté par :

M^{elle} KESSI LYNDA.

Devant le jury :

Président : M^r OUDJIANE

M A A à l'U.M.M.T.O

Promotrice: M^{me} SADOUDI D.

Professeur à l'U.M.M.T.O

Co promotrice : M^{me} MESBAHI N.

M A A à l'U.M.M.T.O

Examineurs: M^{elle} ALI AHMED S.

M A A à l'U.M.M.T.O

Promotion 2014 / 2015

Remerciements

Je tiens à remercier le bon Dieu le tout puissant de m'avoir donné patience et courage pour mener à terme ce travail.

Ma gratitude s'adresse à ma promotrice Mme SADOUDI D., professeur à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Je remercie très chaleureusement ma Co-promotrice M^{me} MESBAHI qui m'a assisté tout au long de ce travail. Pour ses remarques objectives, son soutien et ces encouragements.

Je remercie aussi très sincèrement les membres du jury : la présidente M^r OUDJIANE l'examinatrice M^{elle} ALI AHMAD.S pour avoir bien voulu accepter d'évaluer ce travail.

En fin un grand merci à l'ensemble de mes enseignants, tout le personnel de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université de Mouloud Mammeri.

Dédicaces

A mes très chers parents

A mon mari

A toute ma belle famille

*La réalisation de ce travail n'aurait pas été possible sans votre
soutien, moral, et affectif*

Je vous dédie cette thèse en guise de reconnaissance.

*Je remercie mes amies, pour votre amitié, votre soutien vous aurez
toujours une place dans mon cœur.*

*En fin, à toute la promotion de Protection de L'Environnement
2014-2015.*

Figure 1: Diagramme de texture de sol.....	03
Figure 2 : Mécanismes de transport des hydrocarbures après un déversement à la surface du sol (Bergue, 1986).....	09
Figure 3 : Action des polluent dans le sol	10
Figure 4: Mode d'action des plantes sur les polluants des sols, au niveau du système racinaire La phytoremédiation est fondée sur les interactions sol-racinepolluants. L'effet rhizosphère correspond à une stimulation de la croissance microbienne.....	14
Figure 5: Photo de Bourbier avant le forage (a) et après une opération de forage (b).....	18
Figure 6 : Schéma représentatif de la classification des fractions de sol	22
Figure 7: Le dispositif expérimental de l'essai au laboratoire	28
Figure 8 : Trèfle (SNP) (a) et (SPD) (b) les photos originales, 2015).....	34
Figure 9: Ray grass (SNP) (a) et (SPD) (b) les photos originales, 2015)	34
Figure 10: Luzerne (SNP) (a) et (SPD) (b) les photos originales, 2015)	34
Figure 11: Impacte de la pollution sur le taux de germination des plantes de RG : ray grass, TR : Trèfle , LZ : Luzerne.....	35
Figure 12 : L'évolution de la hauteur du ray-grass cultivé en SPD et SNPD durant 8 semaines	38
Figure 13: L'évolution de la hauteur des plantes du trèfle en fonction du temps cultivées en sol pollué et non pollué dilué durant 8 semaines.....	38
Figure 14 : L'évolution de la hauteur des plantes de la luzerne en fonction du temps cultivées en sol pollué et non pollué dilué durant 8 semaines.....	39
Figure 15 : Evolution de la hauteur des plantes du Ray-grass (RG) et de Trèfle (TR) cultivées dans le sol contaminé durant 8 semaines.....	39
Figure 16 : Comparaison des taux d'hydrocarbure totaux dissipé dans le SPD après phytoremédiation et SPDT.....	42

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des différents type d'hydrocarbures (karg, 2001).	6
Tableau 2 : Les principaux essais de phytoremédiation réalisés à l'UMMTO	16
Tableau 3 : Résultats de croissances des plantes sur déférentes sols	27
Tableau 4 : Plan de test de croissances de déférentes plantes.....	27
Tableau 5 : Résultats des analyses physico-chimiques de sol des bourbiers	30
Tableau 6 : Résultats des analyses physico-chimiques de sol de jardin	32
Tableau 7 : L'analyse de la variance de la levée des trois espèces	36
Tableau 8 : Le test de NEWMAN et KEULS pour le facteur espèce	36
Tableau 9 : Le test de NEWMAN et KEULS pour la levée des trois espèces végétales.....	37
Tableau 10 : L'analyse de la variance de la hauteur des trois espèces	40
Tableau 11 : Le test de NEWMAN et KEULS pour le facteur espèce	40
Tableau 12 : Le test NEWMAN et KEULS pour la hauteur des plantes des trois espèces	41
Tableau 13 : L'analyse de la variance de taux d'hydrocarbures totaux dissipés.....	43
Tableau 14 : Le test de NEWMAN et KEULS pour le facteur espèces	43
Tableau 15 : Le test de NEWMAN et KEULS pour le facteur temps	43
Tableau 16 : Le test de NEWMAN et KEULS pour le dosage d'hydrocarbure des trois espèces avant et après la culture	43

Introduction générale et problématique.....	01
PREMIÈRE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Généralités sur le sol	03
I.1 Définition de sol.....	03
I.2.Caractéristiques physi-cochimiques de sol	03
I.2.1.La texture de sol.....	03
a. La perméabilité du sol à l'eau et à l'aire.....	04
b. La rétention de l'eau.....	04
I.2.2.Analyse granulométrique.....	04
I.2.3.Conductivité électrique.....	04
I.2.4.Potentiel d'hydrogene (PH).....	05
I.3.Rôle du sol.....	05
II. Généralités sur les hydrocarbures.....	05
II.1.Classification des hydrocarbures.....	06
II.2.Propriétés des hydrocarbures	07
II.2.1.Solubilité	07
II.2.2.Densité.....	07
II.2.3.Viscosité.....	07
II.2.4.Point d'éclair.....	07
II.3.Pollution de sol par les hydrocarbures.....	07
II.4.Source des hydrocarbures dans le sol	07
II.5.Toxicités des hydrocarbures.....	08
II.7.Comportement et devenir des hydrocarbures dans le sol.....	08
II.7. Les Bourbiers.....	09
II.7.1.Notion sur les bourbiers.....	10
II.7.2.Influences des bourbiers sur l'environnement.....	10
II.7.3.L'activité de forage.....	10
II.7.4.Opération de production sur puits.....	11
III. Méthodes de remédiations des sols pollués par les hydrocarbures	11
III.1. Traitements thermiques.....	12
III.2. Traitements physique.....	12
III.3.Traitement chimique.....	12
III.4.Traitements biologiques.....	12
III.5.Bioremediation.....	13
III.6.Phytoremediation.....	13
III.6.1.Définition de la phytoremediation.....	13
III.6.2.Les procédés de la phytoremediation.....	13
1. Phytostabilisation.....	13
2. Rhizoatténuation.....	13
3. Phytoextraction.....	14
4. Phytovolatilisation.....	14
III.6.3.Définition de la rhizosphère.....	14

III.6.4.Rôle primordiale de la rhizosphère.....	15
III.6.5.Les avantages de la phytoremediation.....	15
III.6.6.Les inconvénients de la phytoremediation.....	16
III.6.7.Les travaux de recherche de la phytoremediation en l'UMMTO.....	16

DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES

I. Matériels	18
I.1. Sol	18
I.2.Les espèces végétales.....	18
I.2.1.Le trèfle	19
I.2.2.La luzerne.....	19
I.2.3.Le ray grass.....	20
II. Méthodes	21
II.1. Préparation des échantillons de sol	21
II.1.1.Sol pollué.	22
II.1.2.Sol non pollué	22
II.1.3.Sol pollué dilué	22
II.2.Méthode de caractérisation des sols.....	22
II.2.1.Analyse physique.	22
II.2.2.Analyse granulométrique	22
II.2.3.Analyse chimiques	23
II.3. Les pots.....	27
II.4.Test de phytoremédiation	27
II.4.1.Taux de germination.....	28
II.4.2.Taux de croissance moyenne	29
II.4.3.Taux de dégradation d'hydrocarbures totaux de sol.....	29
II.5. Méthodes d'analyses statistiques	29

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I.Caractéristiques des échantillons de sol	30
I.1.Sol pollué	30
I.2.Sol non pollué	32
II. Résultats de l'étude de paramètre de croissance des plantes	34
II.1.Taux de levée des plantes	35
II.2.Hauteur des plantes	37
II.3.Taux d'extraction d'hydrocarbure.	41
Conclusion générale.....	45
Références bibliographiques	
Annexe	

Introduction générale et problématique

Introduction générale et problématique :

La production pétrolière depuis le siècle dernier jusqu'à nos jours a pris une grande ampleur mondiale et ne cesse d'augmenter. elle est passée entre 1950 et 2005 de 490 millions de tonnes à 3,8 milliards de tonnes (Rammade ,2007).

L' Algérie,est l'un des grands pays producteur de sources énergétiques fossiles (gaz et pétrole).

L'exploitation de gisements du pétrole ne cesse d'augmenter d'une année a une autre Engendrant une pollution des sites et des sols qui entourent toute installation (puits, raffineries, station services).cette pollution est susceptible d'une bioaccumulation dans les chaines alimentaires, en Présentant des toxicités pour le végétal, l'animal et des risques pour la santé humaine. la prise de conscience de ces risques conduit à la nécessité d'établir des diagnostics de la pollution et de mettre en œuvre des moyens pour y remédier (Norini, 2007) parmi les techniques proposées il ya la phytoremédiation.

La phytoremédiation offre une réelle alternative, aussi bien écologique que paysagère et financière face aux techniques de dépollution traditionnelles telles que l'excavation, l'épandage ou l'incinération, pour aider à la réhabilitation des terrains contaminés et leur reconversion à des fins d'aménagement agricole, urbain ou de loisirs.

Même si cette technique présente des limites, notamment au niveau de la durée des traitements et de la revalorisation des résidus contaminés (cendres), elle demeure moins onéreuse et assez fiable. Elle s'inscrit aussi dans la durabilité, dans la mesure où la reconversion d'un site pollué en espace vert engendre d'une part un paysage verdoyant et d'autre part un système naturel de dépollution des terrains, ce qui de toute évidence facilitera la tâche des décideurs de l'aménagement raisonné du territoire.

Parmi les problèmes que rencontrent les entreprise pétrolières es Algérie sont les déchets issus des opérations de forage, stockés dans les sites nommés bourbiers, qui présentent un danger pour l'environnement.

Dans le but de faire face à ce type de pollution, notre travail consiste à voir la possibilité de traiter le sol de bourbier par la phytoremédiation en utilisant trois espèces végétales notamment la luzerne, le trèfle et le ray grass.

Introduction générale et problématique :

Le présent mémoire comprend deux parties. La première est un rappel bibliographique concernant la pollution des sols par les hydrocarbures et la méthode de décontamination.

La seconde partie est réservée à la présentation d'une méthodologie adoptée pour évaluer les effets éco toxicologiques des hydrocarbures sur les différents échantillon de sol utilisés (granulométrie, pH, CE) et les paramètres d'évaluation de l'impact de la pollution sur les plantes utilisé (taux de germination, la hauteur des plantes) , suivi de la présentation des résultats obtenu, Ensuite, ce mémoire est finalisé par une conclusion générale .

Partie I

Synthèse bibliographique

Partie II

Matériel et méthode

Partie III

Résultats et discussion

I. Caractéristiques des échantillons de sol

I.1.Sol pollué

L'ensemble des résultats de caractérisation du sol pollué sont représentés dans le tableau II.

Tableau 5 : Résultats des analyses physico-chimiques de sol des bourniers

Paramètres	Résultats
Phosphore (mg/l)	2,03±0,01
Nitrates (mg/l)	6,26±0,10
Nitrites (mg/l)	3,04±0,01
Carbone (%)	3,4
Humidité (%)	5,9
PH	8,18
Conductivité (µs/cm)	28.10 ³
Matière organique (%)	5,86
Calcaire (%)	16,25
Hydrocarbure totaux (g/kg sol)	27,86
granulométrie	4.80% limon;6.53% argile ; 73.45% sable

Les résultats des analyses granulométriques de notre échantillon de sol pollué fait ressortir une prédominance de la fraction sableuse avec 73, 45% de sable alors que les fractions d'argiles et de limons sont faibles 6,53% et 4,80.

Le sol étudié est donc classé comme très sableux selon le triangle textural du Groupement d'Études des Problèmes de Pédologie Appliquée : GEPPA.

L'importance de la fraction sableuse dans le sol étudiée suggère une bonne perméabilité facilitant ainsi la circulation des fluides contenant les nutriments et l'oxygène qui sera d'autant plus accessible aux microorganismes que le milieu est perméable. Sa diminution va limiter leur extension, aboutissant à la fin à une mauvaise biodégradation (LECOMTE, 1995). En effet, une faible perméabilité limite le passage d'air nécessaire pour promouvoir la croissance bactérienne (GABET, 2004).

Cependant, la faible proportion en argile de notre sol affecte négativement l'activité microbienne puisqu'on peut considérer que la fraction d'argile se comporte comme une sorte d'entrepôt dans lequel serait mise en réserve une partie de ressources nutritives,

assurant de cette façon aux microorganismes un plus grand étalement dans l'espace et la disponibilité des

Nutriments et de l'eau (DOVET, 1996).

L'échantillon de notre sol étudié est caractérisé par un pH alcalin de 8.18, une humidité de 5.90%. Les éléments minéraux dosés sont le : le phosphore, le nitrate et dénitrates dont les teneurs respectivement sont de $2.03 \pm 0,01$ mg/l, $6.26 \pm 0,10$ mg/l et $3.04 \pm 0,01$ mg/l (**Tableau 5**).

Le pH légèrement alcalin du borbier est influencé par celui des boues rejetées présentant des pH allant de 9 à 10 pour éviter la corrosion du matériel de production. Ce pH du borbier proche de la neutralité, favoriserait la croissance des bactéries et des champignons et par conséquent assurerait un déroulement efficace de la biodégradation des hydrocarbures (LEAHY et COTWELL, 1990).

La faible humidité relative du sol étudiée peut être directement liée aux conditions climatiques de la zone d'étude et / ou à la texture du sol. Toutefois, il est à noter qu'une faible humidité peut avoir un effet négatif sur l'activité microbienne en réduisant les transports et les échanges biochimiques ainsi que les contacts microorganismes / polluant (LECOMTE, 1998).

La composition chimique du sol étudié indique un déficit en éléments azotés et phosphorés (**Tableau 5**). Selon ECKFORD et *al.* (2002), la pollution des sols par les hydrocarbures (diesel, carburant) a pour conséquence un déficit en azote par rapport au carbone; ce qui peut limiter la biodégradation des hydrocarbures. Pour tout traitement biologique (bioremédiation et/ou phytoremédiation), un enrichissement du sol par le phosphore et l'azote sera donc nécessaire.

Par ailleurs, il est connu que la flore microbienne a besoin d'éléments minéraux pour sa croissance, en particulier d'azote, dont les proportions optimales, généralement admises, sont de 10g d'azote et 1g de phosphore pour 100g de carbone. Ces éléments rentrent dans l'édification des constituants cellulaires lors de la multiplication des microorganismes (synthèse d'ADN, protéines...etc.) (BALLERINI, 1999). REIS et *al.* (2010) rapportent que dans les environnements aérobies, les éléments limitant les plus susceptibles sont l'azote et le phosphore.

Le dosage des hydrocarbures totaux dans le sol pollué fait ressortir une teneur de 27.86 g/Kg de sol. La teneur en hydrocarbures du sol pollué du borbier est largement supérieure à la valeur fixée par la norme hollandaise (0.1 g/kg de sol). Ceci nous permet de dire que le sol de borbier est très pollué nécessitant un traitement adéquat. Cette pollution causée par les rejets

de boues de forages constitue une source de carbone importante pour les microorganismes du sol (AKMOUSI, 2009) d'où la possibilité d'une biodégradation.

I.2. Sol non pollué

Les résultats des différents paramètres physico-chimiques étudiés pour le sol non pollué sont représentés dans **tableaux 6**.

Tableau 6: Résultats des analyses physico-chimiques de sol de jardin

Paramètre :	Résultats
Phosphore (mg/l)	14,01±0,01
Nitrates (mg/l)	13,67±0,10
Nitrites (mg/l)	12,03±0,01
Carbone (%)	15,74
Humidité (%)	17,1
PH	7,50
Conductivité (µs/cm)	21.10
Matière organique (%)	15,5
Calcaire (%)	25.1
granulométrie	66.3% argile ; 31,8% limon; 1.9% sable

Les résultats des analyses granulométriques de notre échantillon de sol non pollué fait ressortir une prédominance de la fraction argileuse avec 66,3%.

Ce sol est donc classé comme argileuse selon le triangle textural du Groupement d'Études des Problèmes de Pédologie Appliquée : GEPPA. Ceci signifie un sol lourd muni d'une forte capacité de rétention en eau et en éléments minéraux.

D'après le **tableau 6**, le pH du sol étudié est neutre (PH=7,50) cette valeur est dans la marge optimale et favorable à la biodégradation des hydrocarbures selon plusieurs auteurs (LECOMTE, 1994; BATTLE et NFESC, 1996; BALLERINI, 1999; COMEAU, 1999). A cette valeur du pH, l'activité de la flore autochtone du sol, dégradant les hydrocarbures, est maintenue. Elle est aussi dans la marge favorable à la croissance des végétaux. Le pH a une incidence sur la facilité du plant à se nourrir. Il influe aussi sur la contamination par divers champignons; un milieu trop acide peut être à l'origine de brûlures des racines (FALCONNET, 1992). Un pH supérieur à 8 est également préjudiciable à la croissance d'un grand nombre de végétaux entraînant une mauvaise assimilation de certains éléments (dont le

Magnésium et surtout le Fer), qui entraîne les symptômes bien connues de la chlorose ferrique (FAUCARD, 1994). D'après BENSEGHIR (1996), le substrat doit présenter un pH compris entre 5 et 8, en dehors de ses limites, le plant sera confronté à des problèmes de nutrition minérale. Un pH voisin de 7 est souhaitable, La plupart des microorganismes sont capables de se développer dans un intervalle de pH allant de 5 à 9 avec un optimum se situant aux alentours de 7 légèrement alcalin (GABET, 2004). DIBBLE et BARTHA (1979) ont mis en évidence que la dégradation des hydrocarbures est maximale pour des pH compris entre 7,5 et 7,8 et est inhibée pour des valeurs inférieures. On peut déduire que l'usage de ce sol sera favorable à la phytoremédiation.

Le taux d'humidité de sol (**tableau 6**) est de 17,1 %. La valeur est dans la marge optimale favorable à la biodégradation des hydrocarbures. Beaucoup de chercheurs (BALLERINI, 1999; MARGESIN et SCHINNER, 2001) considèrent que la teneur en humidité est un facteur limitant important dans la biodégradation. Des taux d'humidité du sol inférieurs à 2% limitent la croissance microbienne et les vitesses de biodégradation (BALLERINI, 1999 ; DAVIS et MADSEN, 1996).

Le sol étudié est très riches en azote et en phosphore d'après(**le tableau6**). L'importance des nutriments dans les processus microbiens est depuis longtemps connue (BAROOAH et BORTHAKUR, 1999). L'azote est requis pour la synthèse des acides aminés tandis que le phosphore (P) est impliqué dans le transport d'énergie sous forme de triphosphate d'adénosine. L'azote et le phosphore sont indispensables à la croissance. Ils sont surtout abondants dans les organes des jeunes plantes. Ils favorisent essentiellement la respiration, la photosynthèse et le développement des racines.

Nous rappelons quel'azote dans les sols dépend de la minéralisation de l'azote organique, c'est-à-dire l'ammonification et la nitrification. C'est un élément indispensable, sa carence inhibe la croissance et entraîne la chlorose des feuilles par diminution de la teneur en chlorophylle en commençant par les plus vieilles (HELLER,1993). L'excès d'azote va provoquer une stimulation de la croissance des feuilles au dépend des fleurs, et il provoque une moindre résistance des plantes aux gelées, à la sécheresse et aux maladies.

Le phosphore joue le rôle d'une véritable centrale énergétique à l'échelle bactérienne, il permet la récupération, l'accumulation et la distribution de l'énergie dans la cellule. En effet une faible disponibilité du phosphore limite la croissance bactérienne D'après BONNEAU (1995). Le sol de jardin est riche en matière organique qui joue un rôle extrêmement important dans la construction et la stabilité de la structure de sol et l'augmentation de la capacité de sol à retenir l'eau ou les éléments minéraux qui sont indispensables a la croissance des plantes .

II. Résultats de l'étude des paramètres de croissance des plantes**(a)****(b)****Figure 8: trèfle(SNP) (a) et (SPD) (b) les photos originales (2015)****(a)****(b)****Figure 9 : le ray grass (SNP) (a) et (SPD) (b) les photos originales (2015)****Figure 10: luzerne(SNP) (a) et (SPD) (b) photo originale,2015)**

SNP : sol non pollué

SPD : sol pollué dilué

II.1.Taux de levée des plantes

La levée constitue un premier diagnostic de réussite d'une culture. Une mauvaise levée peut avoir plusieurs causes liées à la conduite culturale (semis trop profond ou trop superficiel), climat ou à des parasites (Mazliak, 1982).

Plusieurs expériences ont été effectuées afin d'évaluer la capacité de trois espèces végétales à dépolluer le sol pollué provenant des bourniers. La figure suivante représente le taux de levée des plantes de ray grass, trèfle, luzerne au niveau du sol non contaminé et le sol contaminé.

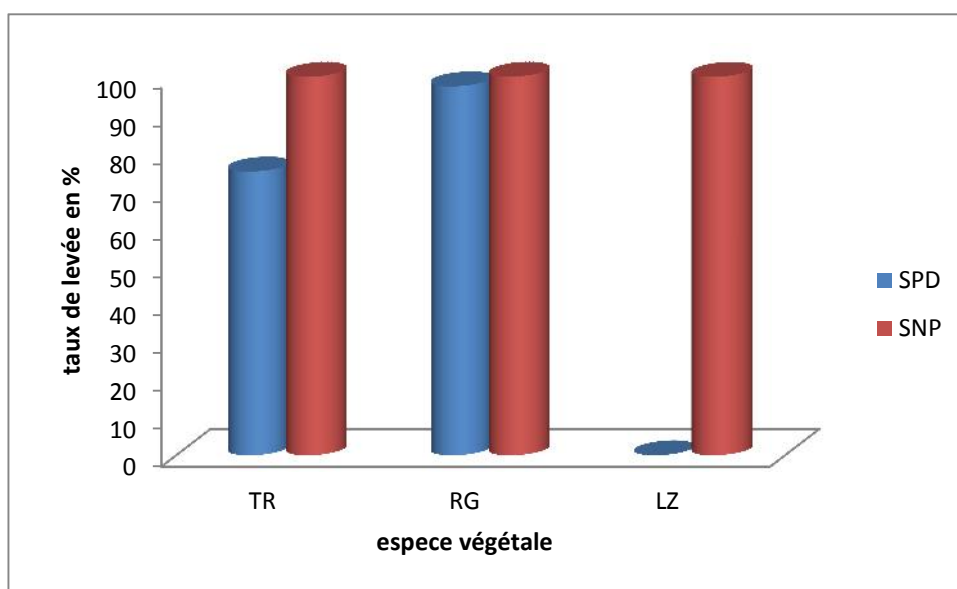


Figure 11: Impacte de la pollution sur le taux de levée des plantes

(RG : ray grass, TR : trèfle, LZ : Luzerne)

D'après la figure on remarque pour les trois espèces végétales, que le taux de levée des graines au niveau du sol non pollué « SNP » atteint les 100 %. Cependant pour les cultures réalisées sur le sol pollué dilué SPD un abaissement de ce taux est observé. Cet abaissement diffère d'une plante à une autre ce qui laisse supposer que les plantes ont une sensibilité différente à la pollution présente dans le sol.

Le taux de levée des graines du Ray-grass est pratiquement semblable à celui noté sur SNP ce qui permet de dire que le Ray-grass a été faiblement affecté par la pollution de sol.

Pour les cultures de trèfle une diminution a été notée. On pourrait dire que le trèfle résiste moyennement à la pollution du sol par les hydrocarbures.

Cependant on remarque une absence totale de levée de la luzerne cela peut nous laisser supposer que cette plante n'a pas supporté la pollution du sol par les hydrocarbures, ou celle dû à d'autres polluants tels que les métaux lourds dont le sol de bournier est contaminé.

D'après CEMAGRF(1983), le taux de levée est satisfaisant à partir de 85% .en se référant aux résultats des taux de levée représenté dans la **figure 11** nous pouvons dire que la levée du semis de ray-grass est assez bonne avec une valeur respective de 97,5, Suivi du trèfle qui atteint 75%. Tandis que la luzerne a présenté une croissance très faible ce qui explique que cette dernière est une espèce très sensible à la pollution apporté par le sol de bournier. Ce que nous permet de supposer que le Ray-grass serait une espèce intéressante pour la phytoremédiation de sol pollué par les hydrocarbures.

L'analyse de la variance du taux de la levée des trois espèces a révélé qu'il y a une différence significative pour le facteur sol, le facteur espèce ainsi qu'à l'interaction entre les deux facteurs le C.V=13,96 cette valeur inférieure à 20 ce qui signifie l'homogénéité au niveaux des répétition (**tableaux 7**).

Tableaux 7 :L'analyse de la variance de la levée des trois espèces.

Source de variation	S.C.E	DDL	Carré moyens	fonction	probabilité	E.T	C.V
totale	33862 ,5	23	1472,283				
Facteur 1 (sol)	10837,5	1	10837,5	89,69	0		
Facteur 2 (espèce)	10425	2	5212,5	43,138	0		
Sol*espèce	10425	2	5212,5	43,138	0		
résiduelle	2175	18	120,833			10,992	13,96

*** : très hautement significatif ($P < 0,001$)

** : hautement significatif ($0,001 < P < 0,01$)

* : significatif ($0,01 < P < 0,05$)

NS : non significatif ($P > 0,05$)

Test de NEWMAN et KEULS (**tableaux 8**) pour le facteur espèce :

libellés	moyenne	Groupe homogène
Ray grass	98,75	A
trèfle	87,5	A
luzerne	50	B

Le test de NEWMAN et KEULS (**tableaux 9**) a fait sortir trois groupes homogènes A, B, C

Tableaux 9: le test de NEWMAN et KEULS pour la levée des trois espèces végétales

Libellés	Moyenne	Groupe
N contaminé ray grass	100	A
N contaminé luzerne	100	A
N contaminé trèfle	100	A
Contaminé ray grass	97,5	A
Contaminé trèfle	75	B
contaminé luzerne	0	C

D'après ces résultats de test de NEWMAN et KEULS, la concentration élevée d'hydrocarbure dans le sol a provoqué un effet toxique sur le taux de germination des graines de ray-grass ainsi que celle de trèfle et la luzerne.

Dans ce présent travail, les résultats sont différents de ceux rapporté par Bergue (1986), la plus part des hydrocarbures n'ont pas d'effets irréversibles sur la germination de graines telles que la luzerne et le trèfle, alors Udo et Fayemi,(1995) *in* chaineau et *al.*,(1997) les hydrocarbures peuvent entrer dans les graines, empêcher les réactions métaboliques et tuer l'embryon par une toxicité aigue directe. il ya également une forte évidence que l'inhibition de la germination soit corrélée à l'hydrophobie des hydrocarbures qui empêchent et/ou réduisent les échanges d'eau et de gaz surtout l'oxygène.

Bergue,(1986), a signalé que les effets des hydrocarbures sur la flore dépendent aussi l'espèce végétale et de stade physiologique de la végétation.

Il est donc important de connaître le niveau de sensibilité de la graine dans un sol contaminé. Il semble que les hydrocarbures soient plus toxiques sur des graines ayant besoin de bonne conditions d'aérobiose pour germer (maïs) que sur des graines pouvant germer en conditions d'anaérobiose partielle (riz). La plupart des hydrocarbures n'ont pas d'effets irréversibles sur la germination de graines telles que la carotte, le trèfle, la luzerne, la laitue, le tournesol Bergue et Mérienne, 1986.

II.2. Hauteur des plantes :

Sur les figures 12, 13 et 14, nous avons représenté l'évolution hebdomadaire de la hauteur des plants de ray-grass, trèfle et de la luzerne.

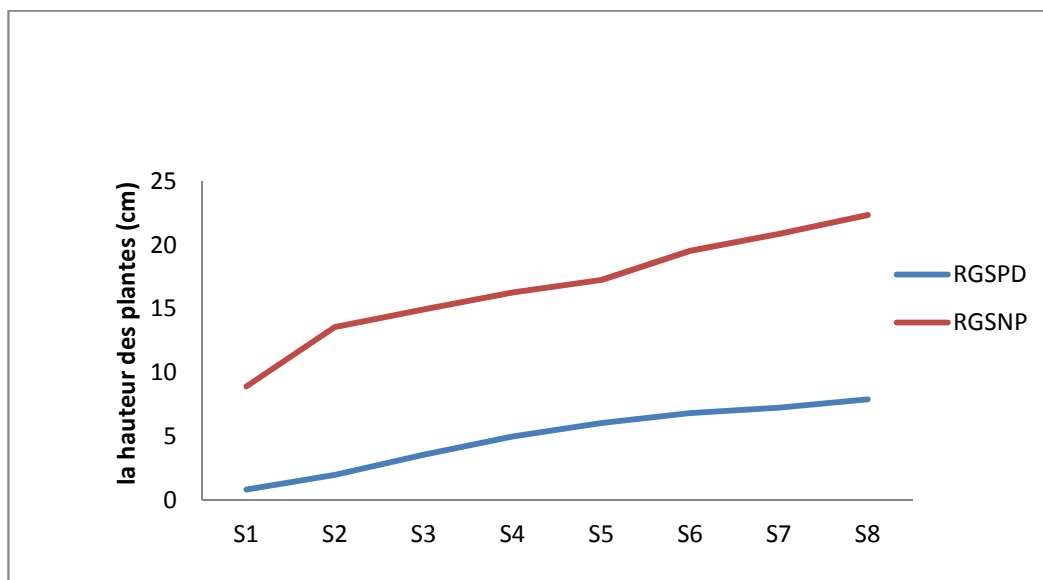


Figure 12 : L'évolution de la hauteur du ray-grass cultivé
En SPD et SNPD durant 8 semaines.

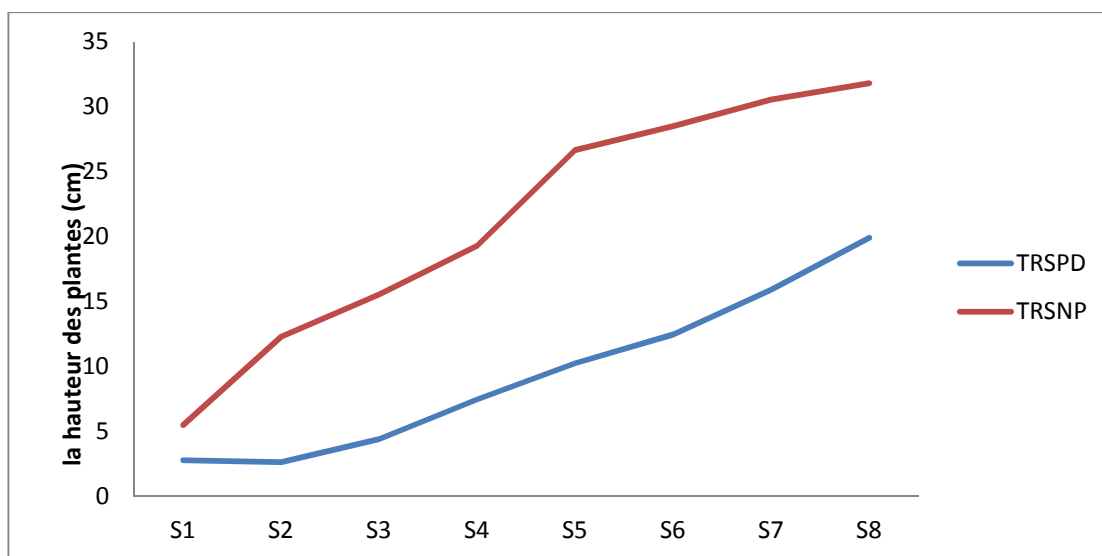


Figure 13 : L'évolution de la hauteur du trèfle cultivé en SPD et SNPD durant 8 semaines.

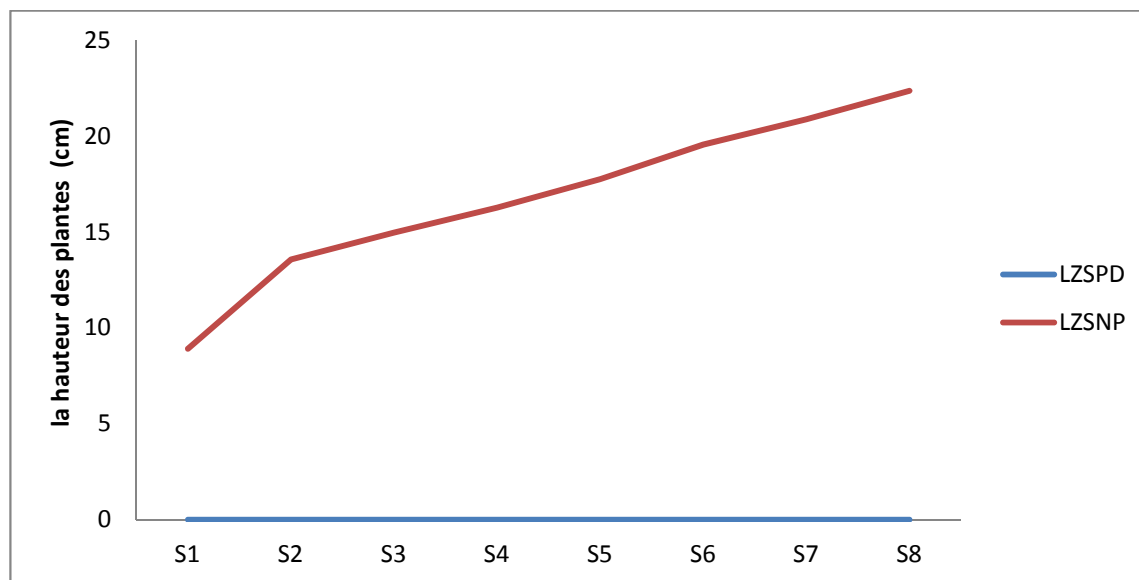


Figure 14 : Evolution de la hauteur de la luzerne cultivée en SPD et SNPD durant 8 semaines.

D'après ces figures **12,13 et 14** il est bien clair que le sol contaminé est défavorable au développement des plantes de ray-grass et de trèfle.

A la huitième semaine, nous avons remarqué que les plantes de ray-grass sur SNPont atteignent une hauteur moyenne de 22,35 cm ; alors qu'elle n'est que de 7,9 cm dans le SPD. Cependant les plantes de trèfle ont enregistré une hauteur moyenne de 31,8 cm sur SNP, et une hauteur moyenne de 19,9 cm dans le SPD.

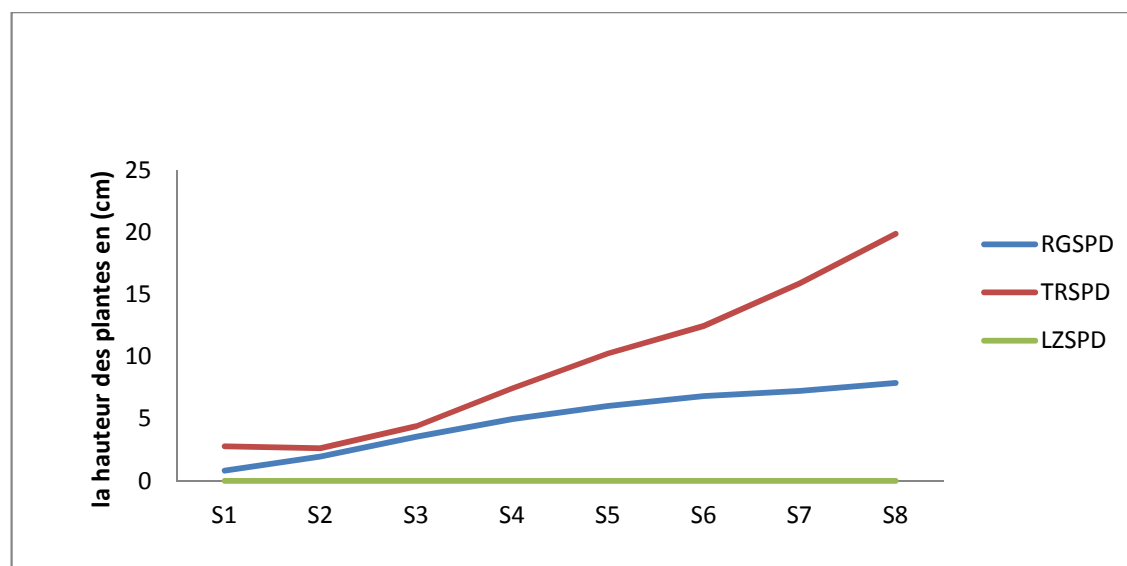


Figure 15 : L'évolution de la hauteur des plantes de ray grass, trèfle et de la luzerne cultivées en SPD durant 8 semaines.

D'après les résultats de la **figure 15** on remarque qu'à partir de la quatrième semaine la croissance des plantes de Trèfle est plus élevée par rapport à celle de Ray-grass.

Au bout de la huitième semaine nous avons remarqué que les plantes de trèfle ont atteint une moyenne de 19,9cm par rapport à des plantes de Ray-grass qui atteignent une moyenne de 7,90cm

Les moyennes des hauteurs de trèfle supérieures à celles du ray grass ce qui explique que le trèfle représente une meilleure évolution par rapport aux ray grass et la luzerne n'a pas germé peut être due à d'autres polluants tels que les métaux lourds dont le sol de borbier est contaminé.

On peut conclure que la présence de pollution dans le sol affecte significativement la croissance des plantes testées.

La baisse de la hauteur des plantes ray-grass est de 64.65% plus importante que celle de trèfle qui n'est que de 37.42 %. Ceci permet de dire que la pollution du sol affecte de façon significative la croissance des plantes de ray-grass.

On peut conclure que la présence de pollution dans le sol affecte significativement la croissance des plantes testées et de façon différente.

L'Analyse de variance de la hauteur des plantes des trois espèces (**tableaux 11**) a révélé qu'il y a une différence hautement significative pour le facteur sol par rapport aux autres facteurs espèce et l'interaction sol-espèce.

Tableaux 10: L'analyse de la variance de la hauteur des trois espèces.

Source de variation	S.C.E	DDL	Carré moyens	fonction	probabilité	E.T	C.V
totale	2670,111	23	116,092				
Facteur 1 (sol)	21,831	1	21,831	3,687	0,06798*		
Facteur 2 (espèce)	623,822	2	311,911	52,677	0		
Sol*espèce	1917,878	2	958,939	161,951	0		
résiduelle	106,581	18	5,921			0,407	20,71

Tableaux 11 : le test de NEWMAN et KEULS pour le facteur espèce :

libelles	moyenne	Groupe homogène
Ray grass	21,49	A
luzerne	19,854	A
trèfle	9,95	B

Le test de NEWMAN et KEULS (**tableaux 12**) a fait sortir quatre groupes homogènes A, B, C, D.

Tableaux 12 : Le test NEWMAN et KEULS pour la hauteur des plantes des trois espèces

Libelles	Moyenne	Groupe
N contaminé trèfle	31,8	A
N contaminé ray grass	22,355	B
N contaminé luzerne	20,625	B
contaminé trèfle	19,9	B
contaminé ray grass	7,908	C
contaminé luzerne	0	D

D'après ces résultats, la concentration d'hydrocarbure dans le sol a provoqué un effet toxique sur La croissance des plantes de ray grass ainsi que celle de trèfle et la luzerne.

En effet la phytotoxicité des hydrocarbures inhibe, pour une long période, le développement de la végétation (CHAINAU et al, 2000).

CHAI NEU et al (1997), ont associé la réduction de la croissance des plantes lors d'une contamination du sol par les hydrocarbures au déficit nutritif, causé par la présence des hydrocarbures.ils ont montré également que la concentration du pétrole brut à un effet sur la physiologie végétal.

D'après Giddens (1976), quelque soit la concentration en hydrocarbures, la croissance des plantes telles que l'orge et le maïs est réduite. Cette réduction serait due à un manque d'assimilation d'eau et d'éléments nutritifs et au changement des propriétés du sol. Selon Barea et *al.* (1983), Rovira et al. (1983) *in* Norini (2007), certains microorganismes, sont même capables de sécréter des phytohormones, substances régulant la croissance des plantes (auxines, gibérlines, cytoquinine, acideabsissique et éthylène).

Nous avons remarqué que au bout de la croissance, les feuilles des plantes sont petites selon Raymond et *al.* (1975) *in* Norini (2007), les haricots cultivés dans les sols contaminés par le pétrole brut développent des déformation dans les feuilles et un retard significative de la croissance.

II.3. Taux d'extraction des hydrocarbures

Les résultats obtenus, par la méthode gravimétrique des quantités d'hydrocarbures restantes dans les divers pots plantés ,nous ont permis de faire une estimation des quantités d'hydrocarbures totaux dissipé.

La figure suivante représente la moyenne des taux d'hydrocarbure totaux HCT dissipés retrouvés dans les sols contaminés :

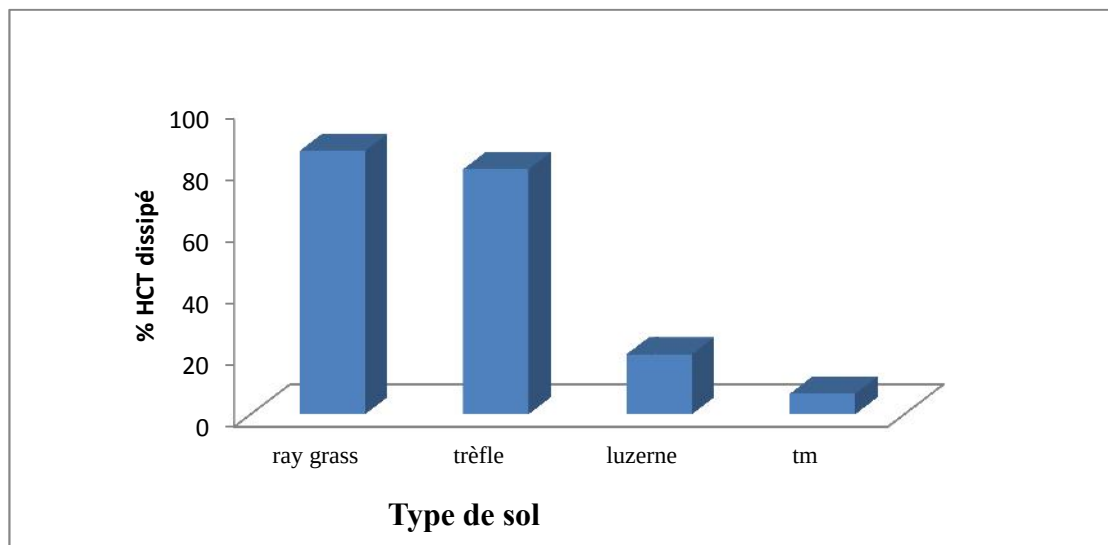


Figure 16 : Comparaison des taux d'hydrocarbure totaux dissipés dans le SPD

Après phytoremédiation et SPDT

Selon les résultats obtenus nous notons que le taux d'hydrocarbure dissipé atteint 85,61 % pour le Ray-grass, 79,72% pour le trèfle et 19,38% pour la luzerne, alors qu'il n'atteint que de 6,66% dans le sol non cultivé (SPDT).

Le taux d'hydrocarbure dissipé le plus élevé a été obtenu donc par la culture de ray-grass suivi par le trèfle ce qui explique que le ray-grass et le trèfle sont des plantes hyperaccumulatrices et que la luzerne n'a pas supporté la pollution peut être dû à d'autres polluants présents tels que les métaux lourds dont le sol de borbier est contaminé.

L'analyse de la variance de l'extraction d'hydrocarbures des trois espèces a révélé qu'il y a une différence hautement significative pour le facteur sol et des différences très hautement significatives pour le facteur espèce ainsi qu'à l'interaction entre les deux facteurs (**tableaux 13**).

Tableaux 13 : L'analyse de la variance de taux d'hydrocarbures totaux dissipée

Source de variation	S.C.E	DDL	Carré moyens	fonction	probabilité	E.T	C.V
totale	31,234	23	1,358				
Facteur 1 (sol)	1,458	2	0,729	4,401	0,02737*		
Facteur 2 (espèce)	21,019	1	21,019	126,884	0		
Sol*espèce	5,776	2	2,888	17,433	0,00007***		
résiduelle	2,982	18	0,166			0,407	20,71

Tableaux 14 : Le test de NEWMAN et KEULS pour le facteur espèce.

libelles	moyenne	Groupe homogene
luzerne	2,268	A
trèfle	1,964	AB
Ray grass	1,664	B

Tableaux 15 : Le test de NEWMAN et KEULS pour le facteur temps :

libelle	moyenne
avant	2,901
apres	1,029

Le test de NEWMAN et KEULS (**tableaux 16**) a révélé trois groupes homogènes A, B, C ce qui signifie que le taux d'hydrocarbure totaux a une différence très hautement significatif sur la croissance des trois espèces.

Tableaux 16: le test de NEWMAN et KEULS pour le dosage d'hydrocarbure des trois espèces avant et après la culture.

Libellés	Moyenne	Groupe
Trèfle avant	3,267	A
Ray grass avant	2,925	AB
Luzerne avant	2,51	BC
Luzerne après	2,025	C
Trèfle après	0,66	D
Ray grass après	0,403	D

La diminution de la quantité des hydrocarbures dans les sols après cultures par rapport à celle avant la culture, est probablement due à la biodégradation de la partie légère de ces hydrocarbures. Comme le montre les résultats obtenues, la biodégradation est plus importante dans le cas de ray grass et le trèfle puis luzerne et enfin le sol témoins.

La diminution de la quantité des hydrocarbures au niveau des sols témoins est probablement due à l'activité bactérienne, en ce qui concerne les sols plantés, la teneur en hydrocarbure a vraiment baissé.

Des études ont montré que les plantes sont capables d'absorber et de métaboliser un grand nombre de polluants organiques et inorganiques. Les plantes secrètent des exsudats racinaires qui stimulent la bioremédiation microbienne au niveau de la rhizosphère (Abdelly, 2007). Selon Kaputska et Reporter (1993), OCDE (1984) et Rivière (1998), les plantes ont la capacité de stockage, ou au contraire de dégradation, qui sont très variable en fonction de l'espèce. L'absorption par la racine et la translocation vers la partie aérienne est en fonction de l'espèce. L'absorption par la racine et la translocation vers la partie aérienne est en fait limitée, très variable et dépendante de l'espèce végétale concernée et les conditions environnementales (Norini, 2007).

Les enzymes secrétées par les plantes sont nombreuses (des laccases, des peroxydases, des déhalogénases, des nitroréductases et des nitrilases), elles contribuent à la métabolisation de hydrocarbures dans la rhizosphères (SCHOOR, 1995).

Conclusion générale

Pour diminué les risques éco-toxicologiques liés à la pollution des sols par les hydrocarbures, la technique de la phytoremédiation semble donné une solution verte à cette épineux problème de pollution, qui consiste à établir un couvert végétale approprié pour permettre le passage des éléments polluant fixés dans les sols vers le couvert végétale sélectionné.

Ce travail s'inscrit dans une perspective d'élaborer une méthodologie simple et réalisable permettant la réhabilitation de sol de borbier pollué, par les rejets de forage lors de l'extraction du pétrole par SONATRAC à Hassi Messaoud, en utilisant la technique de phytoremediation.

Le sol de borbier se caractérise par une texture sableuse, une faible humidité, une faible humidité, une faible teneur en nutriments et un taux élevé en hydrocarbures rendant ce sol très pollué.

Afin de mener à bien nos travaux, nous avons réalisé une étude préliminaire concernant d'une part, la caractérisation physico-chimique du sol pollué et non pollué et d'autre part, la sélection de plantes ayant la capacité de croitre dans le sol pollué.

Suit à cela, nous avons réalisé des tests de phytoremédiation avec les plantes sélectionnées à savoir la luzerne, le trèfle et le ray grass sur du sol pollué dans un rapport 1/9(sol pollué dilué : SPD).

L'efficacité du traitement de phytoremédiation appliquée a été évaluée par le suivi de la croissance des plantes (ray grass, trèfle, luzerne) suivi de l'évolution de la croissance des hydrocarbures dans les différents sols pollués dilués plantés et dans les sols pollués dilués non plantés (témoins).

Pendant la période de la croissance les plants ont montrés des symptômes de toxicité qui se traduisent par le changement de l'aspect morphologiques des plantes tel que : une diminution de la croissance (taux de levée, la hauteur des plantes, réduction de la surface foliaires des feuilles).

L'analyse quantitative avant et après culture, nous a confirmé que la diminution de la teneur des hydrocarbures dans les sols plantés est plus importante que dans les sols non plantés. l'espèce la plus performante en terme de dissipation d'hydrocarbures est le ray grass

(85,61%) suivi de trèfle (79,72%), cependant la luzerne est une espèce qui n'a pas supporté la pollution.

Au regard de ces résultats, nous déduisons de cet essai de phytoremédiation sur un sol de borbier est très satisfaisant pour le ray grass, le trèfle, et non satisfaisant pour la luzerne.

L'atténuation naturelle des hydrocarbures dans le sol pollué dilué non planté (6,66%) serait due à l'activité bactérienne et/ou à l'évaporation des molécules légères des hydrocarbures présentes dans ce sol, on parle alors de dégradation abiotique.

Dans ce travail, nous avons donc mis en évidence la possibilité de traiter le sol de borbier par les plantes sous condition de diminuer sa teneur en pollution d'hydrocarbure par mélange avec du sol non pollué.

En perspective, il serait souhaitable de compléter cette étude par une approche plus approfondie, à savoir :

- Une analyse qualitative des hydrocarbures présents dans le sol et les végétaux qui permettraient de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la phytoremédiation.
- Une analyse des autres polluants du sol de borbier serait nécessaire pour améliorer le rendement de la phytoremediation.
- Tester la capacité d'autre plantes pour la phytoremédiation.
- Etudier l'impact d'une bioaugmentation de la flore bactérienne dégradante les hydrocarbures sur la phytoremédiation.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

1. **ABBASS HADJ ABASS (2011).** les bourniers des forages pétroliers et des unités de production : impact sur l'environnement et technique de traitement, thèse de magister université Kasdi Merbah Ouargla.
2. **AKMOUCI S., (2009).** Contribution à l'étude des boues de forage : Isolement et évaluation de la capacité de quelques souches microbiennes à dégrader le gasoil. Mémoire de Magister
3. **ANONYME 2 (2011).** Rapport d'Audit Environnemental Sonatrach. BOUTS & COUTS en collaboration avec le cabinet ERM, France le 27 janvier 2011.
4. **BAIZE D., (1990).** Guide des analyses courante en pédologie : choix, expression, présentation, interprétation, INRA, 173 p.
5. **BALLERINI D., (1999).** Traitements biologiques des sols. *Technique de l'ingénieur*, traité Environnement, G2 620, pp. 1- 6.
6. **BALLERINI. (1999).** "Traitements biologiques des sols", Technique de l'Ingénieur, vol G2. Biochimie et microbiologie appliquée. Université M'hamad Bougara Boumerdès.
7. **BAROOAH et BORTHAKUR, (1999).**
8. **BASTIDA, F., ZSOLNAY, A., HERNÁNDEZ, T. et GARCÍA, C. (2008).** Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. *Geoderma* 147(3-4) p.159-171.
9. **BENSEGHIR L A. (1996).** « Amélioration des techniques de production hors-sol du Chêneliège conteneur- substrats- nutrition minérale ». Master en sciences forestières CEMAGREF (Aix en Provence), 26 p
10. **BERGUE J., 1986.** La pollution des sols par les hydrocarbures. Service Physique- Génie urbain, laboratoire régional de Rouen. PP 57-64.
11. **Bergue J.M., et Merienne D., 1986 :** la pollution des sols par les hydrocarbures, 65p.
12. **BONNEAU M. (1995).** Fertilisation des forêts dans les pays tempérés, E.N.G.R.E.F. Nancy.
13. **Chaîneau C.H., Morel J.L., Oudot J ., 1997 :** phytotoxicity and plant Uptac of fuel oil hydrocarbons .J.Environ.Qual.Vol 26.Pp : 1478-1483.
14. **Chaîneau C.H., Morel J.L. et Oudot J., 2000:** Bioremediation and biodegradation. Biodegradation of fuel Oil Hydrocarbons in the rhizosphere of Maize. J. Environ. Qual.V295, Pp: 569-578.

15. **CLAIRE FERRET.2012.** Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie .Thèse de doctorat université de Strasbourg
16. **CLAUDIA PATRICIA MARTINEZ CHOIS, 2012.** rehabilitation des sols pollues par les elements traces metalliques grace aux bacteries du sol associees a la rhizosphere de *miscanthus x giganteus* .these de doctorat de l'universite de lorraine
17. **COLIN F., 2000** . pollution localisées des sols et sous-sols par les hydrocarbures et les solvants chlorés. Rapport N°44, Edition Tec et Doc. paris .Vol417.pp95-284.
18. **CRONQUIST A., 1981.** An Integrated system of classification of Flowering plants. Columbia University press, New York.
19. **DAVIS et MADSEN, 1996.** "Factors affecting the biodegradation of toluene in soil" Chemosphere, vol. 33, N°1, pp107-130.
 - a. Départ./Région : , Bulletin de la Société Botanique de France, 1, Tome 5 - Fascicule 2
20. **Diagne P.N.et Talhi R., 1999 :** pollution des sols agricoles par les hydrocarbures : Essai d'amélioration de la nutrition azotée des cultures sensibles. Mémoire d'ingénieur d'état en Agronomie.INA.El Harrach, Alger.52p.
21. **DOVET P., (1996).**Vie microbienne du sol et production végétal. Ed INRA.
22. **ECKFORD R., COOK F. D., SAUL D., AISLABIE J., et FOGHT J., (2002).** Free-Living Heterotrophic Nitrogen-Fixing Bacteria Isolated from Fuel-Contaminated Antarctic Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(10): 5181–5185.
23. **FALCONNET G. (1992).** La production des plants forestiers hors-sol ENGREF (Nancy) 18p.
24. **FATTAL P., 2008 :** pollution des cotes par les hydrocarbures. Presse universitaire des rennes. 498 p.
25. **FATTAL P., 2008.** La pollution des cotes par les hydrocarbures. Edition Presse universitaire de Rennes. pp 80-103.
26. **FOUCARD J. (1994).** Filière pépinière de la production et de la plantation Technique et documentations, édition Lavoisier Paris 428 p.
27. **FOURNIER Eugène - Sur quelques variétés du Lolium perenne L. - 1858, p. 85- 86**
28. **GABET S., 2004.** Remobilisation d'hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'une tension d'origine biologique. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 177P.
29. **GASPERI J., 2006.** Introduction et transfert des hydrocarbures à différentes échelles spatiales dans le réseau d'assainissement parisien .Thèse doctorale à L'ECOLE NATIONALE DES PONTS ET CHAUSSEES. pp 18-25.

30. **GEOFFREY M., 2008.** Étude de bioremédiation des sédiments contaminés par des composés organiques nitrés persistants. Thèse doctorale à l'institut national polytechnique de Toulouse. pp 31-33.
31. **Ghariani, S., N. Trifi-Farah, M. Chakroun, S. Marghali, and M. Marrakchi. 2004.** Characterisation of genetic diversity of Tunisian *Lolium perenne*. Cahier Options Méditerranée 62:73-76.
32. **GOBAT J M, ARAGNO M et MATTHEY W. (2010).** le livre « le sol vivant ; Bases de pédologie- Biologie des sols ». 3e édition revue et augmentée p150-165.
33. Gregory, P.J., 2006. Roots, rhizosphere and soil: the route to a better understanding of soil science? European Journal of Soil Science 57, 2-12.
34. **Hanslin, H.M. and M. Höglind. 2009.** Differences in winter-hardening between phenotypes of *Lolium perenne* with contrasting water-soluble carbohydrate concentrations. Grass and Forage Science 64:187-195.
35. **Hanson, A.A., F.V. Juska, and G.W. Burton. 1969.** Species and varieties, in: Hanson, A. A. and F. V. Juska (eds.), Turfgrass science, American Society of Agronomy. pp. 370-409.
36. Hartmann, A., Rothballer, M., Schmid, M., 2007. Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. Plant Soil 312, 7-14.
37. **HELLER R, ESNAULT R, et LANCE C. (1993)-** Physiologie végétale1. Nutrition. 5eme édition, Masson, Paris, France. 242p.
38. Hinsinger, P., Bengough, A.G., Vetterlein, D., Young, I.M., 2009. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. Plant and Soil 321, 117-152.
39. **Hoffman, L., M. DaCosta, J.S. Ebdon, and E. Watkins. 2010.** Physiological changes during cold acclimation of perennial ryegrass accessions differing in freeze tolerance. Crop Science 50:1037-1047.
40. **Hoffman, L., M. DaCosta, J.S. Ebdon, and J. Zhao. 2012.** Effects of drought preconditioning on freezing tolerance of perennial ryegrass. Environmental and Experimental Botany 79:11-20.
41. **Hulk, B., E. Watkins, D. Wyse, and N. Ehlke. 2008.** Freezing tolerance of selected perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) accessions and its association with field winterhardiness and turf traits. Euphytica 163:131-141.
42. **Humphreys, I.P. King, T. Kishida, T. Yamada, F. Balfourier, G. Charmet, and J.W. Forster. 2002.** An enhanced molecular marker based genetic map of perennial

- ryegrass (*Lolium perenne*) reveals comparative relationships with other *Poaceae* genomes. *Genome/National Research Council Canada* 45:282-295.
43. **Jean louis Morel. 1983.** Phytoremédiation des sols contaminés .Des plantes pour guérir les sols
44. **JONE, E.S., N.L. Mahoney, M.D. Hayward, I.P. Armstead, J.G. Jones, M.O. Zhang, Y., M.A.R. Mian, and J.H. Bouton. 2006b.** Recent molecular and genomic studies on stress tolerance of forage and turf grasses. *Crop Science* 46:497-511.
45. **JOSE F., 1999.** Essai de biodégradabilité sur les sols contaminés par les hydrocarbures. 3^{ème} Edition Dunod, Paris. pp 102-106.
- KARG.F.,2001 :**les les contamination des sols par les hydrocarbures, la complexité des polluants les courants .environ,technique.206p.
- KNOS AS, Gamberdinger AP, Adriano DC, Kolka RK, Kaplan DI .1999.** Sources and practices contributing to soil contamination. *In Bioremediation of Contaminated Soils, Am Soc Agron, Madison, WI, p 53*
48. **KOLLER EMILIAN. (2004)** – traitement des pollutions industrielles (eau, air; déchet, sol, boues). Edition DUNOD Paris. Pp 277-347.
49. **LARDJANE E. et MECHRAOUI H., 2001.** Étude de la bioremédiation d'un sol pollué. Mémoire d'ingénieur d'état en chimie d'environnement, université de Boumerdes .51P.
50. **LEAHY, J. G. et COLWELL R. R., (1990).** Microbial Degradation of hydrocarbons in the Environment. *Microbiol. Rev.*, 54: 305-315.
51. **LECOMTE P., (1995).** Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines. *Édition Lavoisier, TEC & DOC*, p. 198.
52. **LECOMTE, R 1998.** Les sites pollués. Traitement des sols et des eaux souterraines. Lavoisier Tec et Doc, Ed DUNOD. Paris. 204p
53. **MATHIEU M., 2003.** Luzerne .Edition France Agricole. pp 11-21.
54. **NORINI M.P., 2007 :** Ecodynamique des hydrocarbures aromatiques polycycliques et des communautés microbiennes dans les sols à pollution mixte (HAP, métaux) avant et après traitement par biopile et par désorption thermique. Thèse de Doctorat, université Henri Poincaré, Nancy I.Pp :75-90.
55. **NORTCLIFF, S. (2002).** Standardisation of soil quality attributes. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 88(2) p.161-168.

56. **OMS .2007** : Rappot sur la sante dans le monde un avenir plus sure sur la sécurité sanitaire mondiale du XXI siecle .91pp
57. **PATRICIA MARTINEZ CHOIS(2012)**.réhabilitation des sols pollués par les éléments traces métalliques grâce aux bactéries du sol associées a la rhizosphère de miscanthus x giganteus. Thèse du doctorat de l'université de lorraine.15-39
58. **PNUE (2007)**. GEO4 - L'environnnement pour le développement., 574 p. [en ligne]. Disponible: http://www.unep.org/geo/geo4/report/GEO-4_Report_Full_FR.pdf
59. **Ramade F., 2007** : Introduction à l'écotoxicologie. fondements et applications. Ed et TEC et DOC. Lavoisier.618p.
60. **REDLICH G.C et VERDURE. (1975)-** Le comportement physique des tourbes en cours de culture PHM. Revue horticole. 160 ; 13-20 pp.
61. **REIS R. S., GONC-ROCHAA S. L. , CHAPEAUROUGE D. A., DOMONTA G.B., SANTA- ANNA L. M. M., GUIMARES-FREIRE D. M. et PERALES J., (2010)**.Effects of carbon and nitrogen sources on the proteome of Pseudomonas aeruginosa PA1 during rhamnolipid production. Process Biochemistry, 45 : 1504–1510.
62. **Roxanne Demuysère, 2011**. Développement d'un indice mesurant la stabilité enzymatique relative des sols pour évaluer l'impact d'une contamination organique complexe sur la qualité de sols dans un contexte de remédiation.
63. **SENAY Pierre - Réhabilitation du Festuca loliacea Hudson (Festuca pratensis x Lolium perenne).** - 1950, p. 228- 230 - Départ./Région: Bulletin de la Société Botanique de France, 4, Tome 97 - Fascicule 7-9
64. **SOLTANI M., 2004**. Distribution lipidique et voies de décontamination métabolique chez quatre bactéries Gram négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse de doctorat d'univers Paris. 284 P.
65. **SOLTANI M. (2004)**. Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram- négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Docteur de l'université PARIS 6.
66. **SOLTNER D., 1990**. Les grades productions végétales.17^{ème} édition .Edition science et techniques agricoles. pp 325-353.
67. **SPOSITO, G. (2000)**. The Chemical Composition of Soils. The Chemistry of Soils. Oxford University Press. New-York: p. 3-27.

68. **Thorogood, D. 2003.** Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), in: John Wiley & Sons Inc. (ed.), Turfgrass biology, genetics, and breeding. Casler, M. D. and Duncan, R. R., Hoboken, New Jersey. pp. 75-105.
69. **Waldron, B.L., N.J. Ehlke, D.L. Wyse, and D.J. Vellekson. 1998b.** Genetic variation and predicted gain from selection for winterhardiness and turf quality in a perennial ryegrass topcross population. Crop Science 38:817-822.

Annexes

Annexes 1: les résultats de l'extraction des hydrocarbures dans le sol pollué dilué avant et après la culture des plantes de ray grass, trèfle, luzerne et le témoin (sans culture).

plantes	Avant culture	Après culture	Pert d'hydrocarbures totaux(HT)	% de la perte d'hydrocarbures totaux (HT)
	Mo (g d'HT)/ (Kg sol)	Mf (g d'HT)/ (kg sol)	Md=Mf-Mo(g d'HT)/(kg sol)	
Ray grass	2,925	0,4025	2,5225	85,6193
trèfle	3,1275	0,66	2,6	79,7275
luzerne	2,51	2,025	0,485	19,38
Témoin (SC)	3	2,8	0,2	6,66

Annexes 2: taux delevée des plantes de ray grass, trèfle, luzerne dans le sol pollué dilué (SPD) et dans le sol non pollué (SNP).

espèces	SPD	SNP	espèces	SPD	SNP
TR	75	100	TR	19,9	31,8
RG	97,5	100	RG	7,9	22,355
LZ	0	100	LZ	0	20,625

Annexes 3:la hauteur des plantes du ray grass cultivés dans le sol pollué dilué (SPD) et dans le sol nom pollué (SNP).

	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	S ₈
RGSPD	0,812	1,97	3,55	4,98	6,03	6,82	7,24	7,90
RGSNP	8,91	13,57	14,96	16,27	17,75	19,55	20,875	22,355

Annexes 4:la hauteur des plantes du trèfle cultivé dans le sol pollué dilué (SPD) et dans le sol nom pollué (SNP).

	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	S ₈
TRSPD	2,78	2,63	4,42	7,46	10,25	12,47	15,91	19,9
TRSNP	5,5	12,3	15,55	19,3	26,65	28,5	30,55	31,8

Annexes 5 : la hauteur des plantes de la luzerne cultivée dans le sol pollué dilué (SPD) et dans le sol nom pollué (SNP).

	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	S ₈
LZSPD	0	0	0	0	0	0	0	0
LZSNP	4,475	8,325	11,85	14,5	16,375	18,02	19,12	20,625

Annexes 6 : la hauteur des plantes de ray grass, trèfle, la luzerne cultivée dans le sol pollué dilué (SPD) et dans le sol non pollué (SNP).

	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	S ₈
RGSPD	0,812	1,97	3,55	4,98	6,03	6,82	7,24	7,90
TRSPD	2,78	2,63	4,42	7,46	10,25	12,47	15,91	19,9
LZSPD	0	0	0	0	0	0	0	0

Annexes 7 : l'analyse de la variance de la levée des trois espèces

Source de variation	S.C.E	DDL	Carré moyens	fonction	probabilité	E.T	C.V
totale	33862 ,5	23	1472,283				
Facteur 1 (sol)	10837,5	1	10837,5	89,69	0		
Facteur 2 (espèce)	10425	2	5212,5	43,138	0		
Sol*espèce	10425	2	5212,5	43,138	0		
résiduelle	2175	18	120,833			10,992	13,96

Annexes 8 : le test de NEWMAN et KEULS pour la levée des trois espèces végétales

Libellés	Moyenne	Groupe
N contaminé ray grass	100	A
N Contaminé luzerne	100	A
N contaminé trèfle	100	A
Contaminé ray grass	97,5	A
Contaminé trèfle	75	B
contaminé luzerne	0	C

Annexes 9 : L'analyse de la variance de la hauteur des trois espèces.

Source de variation	S.C.E	DDL	Carré moyens	fonction	probabilité	E.T	C.V
totale	2670,111	23	116,092				
Facteur 1 (sol)	21,831	1	21,831	3,687	0,06798*		
Facteur 2 (espèce)	623,822	2	311,911	52,677	0		
Sol*espèce	1917,878	2	958,939	161,951	0		
résiduelle	106,581	18	5,921			0 ,407	20,71

Annexes 10 : Le test NEWMAN et KEULS pour la hauteur des plantes des trois espèces

Libelles	Moyenne	Groupe
Contaminé luzerne	31,8	A
Contaminé ray grass	22,355	B
N contaminé ray grass	20,625	B
Contaminé trèfle	19,9	B
N contaminé luzerne	7,908	C
N contaminé trèfle	0	D

Annexes 11 : L'analyse de la variance de taux d'hydrocarbures totaux dissipés.

Source de variation	S.C.E	DDL	Carré moyens	fonction	probabilité	E.T	C.V
totale	31,234	23	1,358				
Facteur 1 (sol)	1,458	2	0,729	4,401	0,02737*		
Facteur 2 (espèce)	21,019	1	21,019	126,884	0		
Sol*espèce	5,776	2	2,888	17,433	0,00007***		
résiduelle	2,982	18	0,166			0,407	20,71

Annexes 12: le test de NEWMAN et KEULS pour le dosage d'hydrocarbure des trois espèces avant et après la culture.

Libellés	Moyenne	Groupe
Trèfle avant	3,267	A
Ray grass avant	2,925	AB
Luzerne avant	2,51	BC
Luzerne après	2,025	C
Trèfle après	0,66	D
Ray grass après	0,403	D