

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**

**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**

**Département de Biologie**



**Mémoire de fin d'études**

En vue de l'obtention du diplôme de master

En Ecologie et environnement

Spécialité : Biodiversité et environnement

*Thème :*

**Contribution à l'atténuation de la pollution aux  
carburants d'un sol d'une station-service par  
phytoremédiation**

Présenté par : Mehraz Zahra  
Ouali Sabrina

**Devant le jury :**

Présidente : M <sup>lle</sup> ALI AHMED S.	MAA	UMMTO
Promotrice : M <sup>me</sup> SADOUDI -ALI AHMED D.	Professeur	UMMTO
Co- Promotrice : M <sup>me</sup> MESBAHI N.	Doctorante	UMMTO
Examinatrice : M <sup>lle</sup> BACHI K.	MCB	UMMTO

Date de soutenance :

31 Octobre 2019

## **Remerciements**

*Nous remercions tout d'abord, le bon Dieu qui nous a donné le courage et la patience pour terminer ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à notre promotrice Mme SADOUDI-ALI AHMED D. Professeur à l'UMMTO de nous avoir proposé cette thématique d'actualité et d'avoir accepté de nous encadrer, de diriger ce travail, pour son aide très précieuse et sa patience.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre Co-promotrice : Mme MESBAHI N. pour sa contribution concrète, son aide et ses conseils afin de terminer ce travail.*

*Nous remercions aussi très sincèrement les membres de jury : La présidente M<sup>elle</sup> ALI AHMAD S et l'examinatrice M<sup>elle</sup> BACHI K, pour avoir bien voulu évaluer ce travail.*

*Nous voudrions aussi témoigner notre reconnaissance et exprimer toute notre gratitude à nos enseignants qui ont participé pour une grande part dans notre formation ;*

*Nous tenons également à remercier Mme ABROUS ingénieur de laboratoire de recherche pour sa disponibilité et son aide ainsi que tout les autres ingénieurs de laboratoire ;*

*Nous tenons à remercier nos amis pour nous donner le courage, le soutien moral pour mener ce modeste travail*

*Enfin, nous adressons un grand merci à nos familles et à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail et à tous ceux qui nous ont apporté leur aide.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail:*

*A ma très chère mère pour son soutien moral et matériel tout au long de mes études, que Dieu la protège et lui accorde une longue vie pleine.*

*A la mémoire de mon cher père*

*A mes chers frères et sœur.*

*A mon beau frère et belle sœur.*

*A mes neveux et mes nièces.*

*A mon cher fiancé et sa famille.*

*A mes cousins, cousines, tantes et grand-mère.*

*A mon binôme et sa famille.*

*A mes amis (es), et ceux qui m'aiment.*

*A toute la promotion de Biodiversité et Environnement 2018/2019.*

**Zahra**



## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail:*

*A mes très chers parents pour leur soutien tout au long de mes études, que Dieu les protège et leur accorde une longue vie pleine de bonheur et de santé.*

*A mes chers frères et sœurs*

*A mon binôme et sa famille.*

*A mes amis (es), et ceux qui m'aiment.*

*A toute la promotion de Biodiversité et Environnement 2018/2019.*

*Sabrina*



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de sol .....	27
<b>Tableau 2</b> : Analyse de la variance du taux de levée des plantes de trèfle .....	30
<b>Tableau 3</b> : Analyse de la variance du taux de levée du maïs .....	30
<b>Tableau 4</b> : Analyse de la variance de la hauteur des plantes hebdomadaire du trèfle .....	32
<b>Tableau 5</b> : Test de Newman et Keuls pour la hauteur des plantes hebdomadaire du trèfle .....	33
<b>Tableau 6</b> : Analyse de la variance des résultats de la hauteur hebdomadaire des plantes du maïs .....	33
<b>Tableau 7</b> : Analyse de la variance de la hauteur de la longueur racinaire des plantes de trèfle .....	35
<b>Tableau 8</b> : Groupes homogènes de la longueur racinaire du trèfle .....	35
<b>Tableau 9</b> : Analyses de la variance de la longueur racinaire du maïs .....	35
<b>Tableau 10</b> : Groupes homogènes de la longueur racinaire du maïs pour le facteur sol déterminé par le test de Newman et Keuls .....	36
<b>Tableau 11</b> : Analyse de la variance de nombre de feuilles des plants de trèfle.....	37
<b>Tableau 12</b> : Analyse de la variance du nombre de feuilles du maïs .....	37
<b>Tableau 13</b> : Groupes homogènes du nombre de feuilles du maïs pour le facteur sol déterminé par le test de Newman et Keuls .....	38
<b>Tableau 14</b> : Analyse de la variance de la biomasse aérienne du trèfle.....	39
<b>Tableau 15</b> : Analyse de la variance de la biomasse aérienne du maïs .....	39
<b>Tableau 16</b> : Groupes homogènes de la biomasse aérienne du maïs pour le facteur sol déterminé par le test de Newman et Keuls .....	40
<b>Tableau 17</b> : Analyse de la variance de la biomasse racinaire des plants de trèfle .....	41
<b>Tableau 18</b> : Groupes homogènes de la biomasse racinaire du trèfle.....	41
<b>Tableau 19</b> : Analyse de la variance de la biomasse racinaire du maïs .....	42

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>Figure 1</b>	Schéma du protocole de dénombrement de la flore totale du sol.	<b>22</b>
<b>Figure 2</b>	Schéma du dispositif des cultures du maïs et du trèfle utilisées pour la phytoremédiation.	<b>24</b>
<b>Figure 3</b>	Résultats du test de germination des plantes dans les différents échantillons de sols.	<b>28</b>
<b>Figure 4</b>	Taux de levée du trèfle (a) et du maïs (b) cultivées dans les différents types de sols pollués et non pollué.	<b>29</b>
<b>Figure 5</b>	Photo illustrant la croissance de trèfle et de maïs dans les différents échantillons de sol (photo originale ,2019)	<b>30</b>
<b>Figure 6</b>	Evolution de la hauteur hebdomadaire du trèfle (a) et du maïs (b) cultivées dans les différents types de sols pollués et non pollué.	<b>31</b>
<b>Figure 7</b>	Evolution de longueur racinaire du trèfle (a) et le maïs (b) cultivé dans les différents types de sols pollué et non pollué en fin de traitement.	<b>34</b>
<b>Figure 8</b>	Photo illustrant les parties aériennes et racinaires du trèfle et du maïs en fin de culture (photo originale, 2019).	<b>34</b>
<b>Figure 9</b>	Nombre de feuilles de trèfle (b) et le maïs (b) cultivés dans les différents types de sols.	<b>36</b>
<b>Figure 10</b>	Biomasse aérienne du trèfle (a) et du maïs (b) cultivée dans les différents types de sols pollués et non pollué.	<b>38</b>
<b>Figure 11</b>	Biomasse racinaire du trèfle (a) et du maïs (b) cultivée dans les différents types de sols pollués et non pollué.	<b>40</b>
<b>Figure 12</b>	Evolution du pH des sols cultivés par le trèfle (a) et du maïs (b) avant et après phytoremédiation.	<b>42</b>
<b>Figure 13</b>	Présentation de l'évolution de la flore bactérienne dans les échantillons de sol cultivés par le maïs.	<b>44</b>
<b>Figure 14</b>	Photo des boîtes de pétri de dénombrement de la flore mésophile de sol pollué (photo originale, 2019).	<b>44</b>
<b>Figure 15</b>	Présentation du taux de dissipation des hydrocarbures totaux des sols pollués cultivés par le trèfle et le maïs.	<b>45</b>

## Liste des abréviations

---

HAP : hydrocarbures aromatiques polycyclique

MO : matière organique

CE : conductivité électrique

GN : gélose nutritive

PDA : Potatoes Dextrose Agar

# Table des matières

---

## *Table des matières*

*Liste des figures*

*Liste des tableaux*

*Liste des abréviations*

*Introduction générale* ..... 1

## **Chapitre 1 : synthèse bibliographique**

1. Généralités sur les hydrocarbures.....	3
1.1. Définition des hydrocarbures.....	3
1.2. Classification des hydrocarbures .....	3
1.3. Principales sources de contamination du sol par les hydrocarbures.....	4
1.3.1. Sources naturelles .....	4
1.3.2. Sources anthropiques .....	4
1.4. Devenir des HAP dans l'environnement .....	5
1.4.1. Solubilisation .....	5
1.4.2. Sorption.....	5
1.4.3. Volatilisation.....	5
1.4.4. Biodégradation .....	5
1.5. Effets écotoxicologiques des hydrocarbures .....	6
1.5.1. Effets sur les propriétés physiques du sol .....	6
1.5.2. Effets sur les propriétés chimiques du sol .....	6
1.5.3. Effets sur les propriétés biologiques du sol .....	6
1.5.4. Effets des hydrocarbures sur le végétal .....	6
1.5.5. Impact des hydrocarbures sur l'environnement .....	7
2. Méthodes de dissipation (dégradation) des HAP dans les sols pollués .....	7
2.1. Traitements physiques .....	8
2.2. Traitements chimiques.....	8
2.3. Traitements thermiques .....	8
2.4. Traitements biologiques.....	8
2.4.1. Bioremédiation.....	8
2.4.2. Phytoremédiation .....	9
2.4.3. Choix de la plante .....	12

# Table des matières

---

2.4.4. Avantages et limites de la phytoremédiation .....	13
----------------------------------------------------------	----

## Chapitre 2 : matériel et méthodes

I. Matériel .....	15
1.1. Sol .....	15
1.2. Matériel biologique .....	15
1.2.1. Trèfle .....	15
1.2.2. Maïs .....	16
1.2.3. Substrats organiques .....	17
II. Méthode .....	17
2.1. Préparation du sol .....	17
2.2. Méthodes d'analyses physico-chimiques .....	17
2.2.1. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH) .....	17
2.2.2. Mesure de la conductivité électrique (CE) .....	18
2.2.3. Mesure de l'humidité du sol .....	18
2.2.4. Mesure du taux de carbone organique et de la matière organique .....	18
2.2.5. Mesure de la teneur des Hydrocarbures totaux dans le sol .....	20
2.3. Analyse microbiologique : Dénombrement de la flore mésophile totale .....	20
2.4. Méthode de phytoremédiation .....	22
2.4.1. Test de germination .....	22
2.4.2. Procédé des essais de phytoremediation .....	23
2.4.3. Méthodes de mesure des paramètres de croissance des végétaux .....	25
3. Analyses statistiques .....	26

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

### I- Résultats

1. Résultats caractérisations des échantillons du sol .....	27
2. Résultats des essais de la phytoremédiation .....	27
2.1. Test de germination .....	27
3. Résultats de l'analyse des paramètres de croissance des plantes .....	28
3.1.1. Taux de levée .....	28
3.1.2. Hauteur des plantes .....	30

# Table des matières

---

3.1.3. Longueur des racines des plantes .....	33
3.1.4. Nombre de feuilles des plantes .....	36
3.1.5. Biomasse aérienne des plantes .....	38
3.1.6. Biomasse racinaire des plantes .....	40
4. Résultats de la mesure du pH .....	42
5. Résultats du dénombrement de la flore mésophile .....	43
6. Taux de dissipation des hydrocarbures des sols pollués .....	44

## **II- Discussions**

Conclusion générale .....	54
---------------------------	----

Références bibliographiques

Annexe

Les activités humaines, qu'elles soient industrielles, agricoles ou domestiques ont généré, depuis le début du développement industriel, des quantités croissantes de substances ou de déchets qui présentent des risques pour la santé de l'homme et qui peuvent dégrader son environnement (Girard, 2005).

Les stations-services sont parmi les principales causes des pollutions constatées par la corrosion des cuves de stockage, ou des fuites de canalisation entre les citernes et les ilots de pompes et séparation des hydrocarbures (Colin, 2001).

En Algérie, le développement économique s'est accompagné d'une consommation croissante des ressources naturelles générant des déchets et résidus qui ont provoqué une accélération de la dégradation de l'environnement. Les niveaux de dégradation atteints sont particulièrement préoccupants: pollution de l'air, du sol, de l'eau et de l'environnement d'une manière générale (Bellabas et *al.*, 2016).

La dépollution des sites contaminés est une préoccupation majeure en raison, d'une part, de l'impact de cette pollution sur l'environnement et la santé, liée notamment à la propagation des molécules dangereuses dans le milieu et leur transfert dans les nappes phréatiques et dans la chaîne alimentaire, et d'autre part des coûts exorbitants engendrés par les projets de réhabilitation qui exigent souvent l'excavation des sols et le transport onéreux des terres vers les installations de dépollution (Gabet, 2004).

En dépit des utilisations multiples des procédés physicochimiques dans la restauration des sols pollués par les produits pétroliers, la méthode biologique telle que la phytoremédiation offrent une bonne combinaison du point de vue économique que respect de l'environnement (Schnoor, 2003).

La phytoremédiation, technologie verte, peut s'avérer être une solution prometteuse au problème posé par la décontamination des sols pollués par des hydrocarbures. Elle consiste à évaluer la capacité des plantes à éliminer et/ou atténuer la contamination des sols par les hydrocarbures (Shirdam et *al.*, 2008).

C'est une technologie en voie de développement, elle suscite l'intérêt de nombreux laboratoires de recherche à travers le monde. Dans ce contexte, nous avons choisi des espèces de légumineuses, pour mener un traitement des sols pollués avec les hydrocarbures au laboratoire. Ce choix est fait en se référant aux travaux déjà entrepris dans le cas de sols contaminés par les essences et le pétrole (Henner, 2000).

Plusieurs auteurs ont effectué des travaux sur la phytoremédiation de sols pollués artificiellement en laboratoire qui ont abouti à des résultats satisfaisants mais peu d'étude ont été faites sur du sol pollué accidentellement.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail dont l'objectif principal est d'essayer de réhabiliter un sol pollué accidentellement par les carburants (gasoil) d'une station d'essence situé au niveau de la commune Bouzeguène, à la wilaya de Tizi-Ouzou par la phytoremédiation en utilisant deux espèces, une graminée (le maïs) et une légumineuse (le trèfle).

Le présent travail se subdivise en trois parties : La première consiste en un rappel bibliographique sur les hydrocarbures, la pollution du sol par les hydrocarbures et les techniques de réhabilitation. La deuxième partie est dédiée à la présentation du matériel ainsi que des méthodes utilisées pour la réalisation de nos expériences. Pour la troisième partie, nous l'avons consacré à l'exposition des résultats obtenus. Enfin, nous avons clôturé notre travail par une conclusion générale et des perspectives.

## 1. Généralités sur Les hydrocarbures

### 1.1. Définition des hydrocarbures

Les hydrocarbures constituent un groupe de produits chimiques de structures très variées, qui sont constitués uniquement de carbone et d'hydrogène (Picot et Montando, 2013). Ils possèdent une formule brute de type  $C_nH_m$ , où  $n$  et  $m$  sont 2 entiers naturels (Pimsee, 2014 in Chibane, 2013).

### 1.2. Classification des hydrocarbures

Les hydrocarbures constituent la fraction la plus importante d'un pétrole brut (65 et 95%)(Soltani, 2004).

Ces hydrocarbures peuvent être regroupés en quatre familles principales qui sont présentes en proportions variables selon leur origine :

- Les hydrocarbures saturés qui regroupent les alcanes linéaires ( $n$ -alcanes,  $C_nH_{2n+2}$ ), les alcanes ramifiés et les cycloalcanes (composés cycliques saturés).
- Les hydrocarbures insaturés présentent quant à eux une liaison double, voire triple. Ils sont plus riches en électrons qu'un hydrocarbure saturé.
- Les composés polaires qui sont des molécules hétérocycliques (des composés oxygénés, des composés soufrés, des composés azotés)
- Les asphaltées correspondent à une classe de composés de hauts poids moléculaires (à base de cycles aromatiques condensés, de naphtéo-aromatiques, de ramifications et d'hétéroatomes (o, n, s).
- Les hydrocarbures aromatiques et polyaromatiques (HAP) dont la structure des molécules comprend au moins deux cycles aromatiques condensés (Menzie et *al.*, 1992 ; LI et Chen, 2002).

En général, Les hydrocarbures aromatiques sont moins abondants que les alcanes et ne représentent que 10 à 30 % des hydrocarbures totaux d'un pétrole brut (Soltani, 2004).

Leurs propriétés physico-chimiques les rendent récalcitrants à la dégradation naturelle, et donc persistants sur les sites contaminés.

Les HAP sont des polluants à prendre en considération du fait qu'ils représentent un risque pour la santé humaine et pour l'environnement. Leur pouvoir toxicologique est important

même à de faible concentration notamment par leurs propriétés cancérigènes et/ou mutagènes (Gabet, 2004).

La Communauté Européenne et les Etats-Unis (via l'Environmental Protection Agency, EPA) ont classé comme polluants prioritaires 16 HAP formés de 2 à 6 cycles (Zhou, 2010).

### **1.3. Principales sources de contamination du sol par les hydrocarbures**

La pollution par les hydrocarbures est due à des rejets, volontaires ou non, des produits pétroliers. Les hydrocarbures sont considérés comme étant des polluants à la fois organiques et chimiques (Koller, 2009 *in* Dali, 2018).

La plupart des contaminants organiques sont générés par l'activité humaine. Néanmoins, certains contaminants peuvent avoir une origine naturelle.

#### **1.3.1. Sources naturelles**

Les origines naturelles incluent les émissions liées aux feux de forêts, aux éruptions volcaniques (Edwards, 1983), notamment des réactions biogènes dans les plantes et les bactéries (Wilcke, 2000) ainsi que les réactions géologiques associées à la production de fuel fossile et minéral (Lcpe, 1994).

Certains HAP peuvent aussi dériver de la modification chimique lors de la diagénèse précoce de précurseurs naturels, tels que les terpénoïdes, les pigments, les stéroïdes et les quinones accumulés dans les dépôts sédimentaires, toutefois cette source est minoritaire contrairement aux autres sources, exceptées en certains endroits très localisés (Knan, 2012).

#### **1.3.2. Sources anthropiques**

La pollution d'origine naturelle est mineure par rapport à celle d'origine anthropique qui est majoritaire (Thiele et Brümmer, 2002 ; Wilcke, 2007). Cette dernière est liée aux activités industrielles, urbaines et énergétiques telles que le processus de production et de dispersion de matières créosotées (chemins de fer), les industries des HC et associé(e)s (brai de goudron, asphalte et épandage de boues) (Whitacre et *al.*, 2008 *in* Técher, 2011); les accidents de la route, la mise en décharge non contrôlée (Chaineau et *al.*, 2000); les retombées atmosphériques dans les zones urbaines et industrielles ou leur périphéries (HC volatils, imbrulés de combustions diverses) (Bocard, 2006); fuites d'oléoducs et de cuves enterrées, industrielles (station-service par exemple) .

## 1.4. Devenir des carburants dans l'environnement

C'est par des processus physiques, chimiques et biologiques qu'un hydrocarbure va pouvoir être déplacé, transformé ou éliminé, après avoir été répandu dans l'environnement.

Parmi les différentes altérations que peut subir un hydrocarbure (Amellal et *al.*, 2006), nous citons les processus suivants:

### 1.4.1. Solubilisation

Bien que les hydrocarbures soient des composés insolubles dans l'eau ; certains d'entre eux peuvent partiellement se dissoudre (hydrocarbures aromatiques et hydrocarbures à faible nombre d'atomes de carbone) (Bertrand et Mille, 1989).

Il est important de noter que ces hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement, ils sont difficiles à éliminer et sont absorbés (Chocat, 2004).

### 1.4.2. Sorption

Elle consiste en la rétention plus ou moins réversible du polluant au niveau de la matrice solide. La sorption fait intervenir des phénomènes assez complexes aboutissant à plusieurs types de liaisons adsorbant/polluant (Barriuso et *al.*, 1996).

Les caractéristiques de la molécule organique (structure, taille, etc), la nature du sol (taux et maturation de la matière organique, acides humiques, etc), l'eau contenue dans le sol et les facteurs environnementaux (pH, température,) peuvent influencer les mécanismes d'adsorption / désorption (Bayard, 1997).

Dans le cas des HAP, ces phénomènes sont d'autant plus importants que les molécules sont complexes.

### 1.4.3. Volatilisation

L'évaporation est un phénomène qui touche les hydrocarbures de faible poids moléculaire et dépend des conditions atmosphériques (vent, température, etc). Les hydrocarbures les plus légers sont éliminés rapidement dès les premiers jours, pouvant conduire à une pollution de l'atmosphère (Soltani, 2004).

### 1.4.4. Biodégradation

C'est la dégradation des hydrocarbures par les microorganismes en particulier les bactéries. La biodégradation est un processus naturel de dépollution de l'environnement. Les voies métaboliques d'oxydation des hydrocarbures par les bactéries et les paramètres qui peuvent influencer la biodégradation ont été étudiées par plusieurs auteurs.

## 1.5. Effets écotoxicologiques des hydrocarbures

Les émissions d'hydrocarbures dans l'atmosphère et les divers biotopes terrestres et aquatiques provoquent d'importantes modifications dans les rapports entre les trois compartiments de la biosphère (Ramade, 2007).

### 1.5.1. Effets sur les propriétés physiques du sol

Les études réalisées dans le but de déterminer l'effet des hydrocarbures sur les propriétés physique du sol ne sont pas nombreuses. Néanmoins, quelques observations intéressantes ont été faites par certains auteurs. D'après Mettauier et *al.*, (1987) cités par Fezzani et Khider (2007), la présence des hydrocarbures améliore la stabilité structurale du sol, accroît sa rétention en eau et réduit sa mouillabilité.

### 1.5.2. Effets sur les propriétés chimiques du sol

Les effets des hydrocarbures sur les propriétés chimiques du sol consistent généralement en une augmentation de la concentration du sol en éléments à l'état de traces tels que le manganèse (Mn), le zinc (Zn) et le fer (Fe), ainsi qu'une augmentation de la conductivité électrique (CE) entraînant l'inhibition de certaines plantes très sensibles à la présence des sels (Sauchelli, 1969 *in* Fezzani et Khider, 2007).

Par ailleurs, les hydrocarbures engendrent une diminution du pH du sol et de la teneur en potassium (K), en calcium (Ca) et en phosphore (P) (Chaineau et *al.*, 1996).

### 1.5.3. Effets sur les propriétés biologiques du sol

La présence des hydrocarbures dans le sol génère des modifications dans ses propriétés biologiques. Dommergues et Mangenot (1970) ainsi que Rouquerol et *al.*, (1987), ont avancé que l'imprégnation des sols en hydrocarbures pour effet global une multiplication intense de la microflore en particulier des champignons, des bactéries et des levures.

Les effets des hydrocarbures sur l'activité biologique du sol dépendent de leur nature, de leur concentration dans le sol et d'autres facteurs liés au milieu (Duchaufour, 2001).

### 1.5.4. Effets des hydrocarbures sur le végétal

Le sol est à la fois le support et le réservoir nutritif du végétal. L'effet phytotoxique des hydrocarbures a été observé à travers la diminution du taux de germination et du rendement, ainsi que les retards de croissance (Chaineau et *al.*, 1996).

## 1.5.5. Impact des hydrocarbures sur l'environnement

Les impacts de la pollution par les hydrocarbures sont multiples. Les aspects les plus évidents sont les grandes catastrophes très médiatisées (Soltani, 2004).

Les sols contaminés par les hydrocarbures présentent un danger lors d'un contact direct avec l'homme ou l'animal ou indirecte lors de leur transfert dans la chaîne alimentaire. C'est le phénomène de bioaccumulation avec le piégeage par les végétaux et les animaux des polluants ou de leurs produits de dégradation jusqu'à des teneurs atteignant les seuils de toxicité (Soltani, 2004).

## 2. Méthodes de dissipation des HAP dans les sols pollués

La pollution des sols par les hydrocarbures a été reconnue comme un problème majeur depuis de nombreuses années notamment celle relative aux Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP). L'impact environnemental de ces molécules hydrophobes, persistantes, aux effets toxiques (mutagènes, cancérigènes) rend nécessaire la décontamination des sites concernés (Viglianti *et al.*, 2008).

Ainsi plusieurs techniques de traitement ont vu le jour afin de tenter de restaurer les sites pollués classés dangereux pour les écosystèmes et la santé humaine (Ballerini et Vandecasteele, 1999).

Il existe plusieurs méthodes de décontamination de type: physique, chimique, thermique ou biologique, que l'on décrira brièvement ci-dessous.

Le choix d'une technique par rapport à un autre est fonction de son efficacité, son coût, sa facilité de mise en œuvre et surtout elle ne doit pas être plus polluante que le résultat de la pollution (pas de transfert de polluant) (Lecomte, 1995).

Le choix du procédé dépend : **de la nature du polluant, du niveau de la pollution, de la nature du sol, des contraintes liées au site et au projet d'aménagement qui est envisagé sur ce site.**

En fonction de ces contraintes, la dépollution peut se faire :

- in-situ : sans excavation des sols, la pollution est traitée sur place ;
- sur-site : les terres polluées sont excavées mais sont tout de même traitées ;
- hors-site : on procède à l'excavation du sol et les terres polluées, qui sont ensuite traitées hors du site.

## 2.1. Traitements physiques

Les traitements physiques consistent à séparer et concentrer les polluants, sans les modifier ou les détruire. Les procédés d'adsorption sur charbon, d'extraction, de lavage et de confinement sont les plus souvent utilisés (Scriban, 1999).

## 2.2. Traitements chimiques

L'objectif de ce type de traitements est la destruction des polluants ou leur transformation en une forme moins nocive pour l'environnement, en induisant des réactions chimiques entre le polluant et le réactif ajouté (Ballerini et Vandecasteele, 1999).

## 2.3. Traitements thermiques

Dans les techniques basées sur un traitement thermique, la chaleur est utilisée pour modifier physiquement ou chimiquement les polluants (Soltani, 2004).

Les traitements thermiques sont considérés comme une solution intégrale et définitive aux problèmes de contamination des sols. Plusieurs types de procédés existent : l'incinération, la désorption thermique et la vitrification (Crone, 2000).

Ce traitement s'avère une option intéressante pour les matériaux d'excavation et les résidus fortement contaminés par des contaminants organiques.

Les procédés thermiques sont très efficaces tant pour l'extraction que l'élimination, mais ils sont souvent coûteux (Koller, 2009) avec risque de diffusion dans l'air des métaux lourds après combustion ce qui représente un danger pour la santé humaine.

## 2.4. Traitements biologiques

Ce sont des traitements qui consistent à utiliser des organismes supérieurs (végétaux) ou des micro-organismes du sol (les champignons, les bactéries, les actinomycètes, les algues, etc.) pour dégrader les polluants organiques, ces derniers sont transformés en général en molécules de moins en moins polluantes (Delage et Schrefler, 2005).

De nos jours le traitement biologique représente une voie majeure de dégradation des HAP ou d'autres contaminants dans l'environnement (Haritash et Kaushik, 2009).

### 2.4.1. Bioremédiation

Son objectif est de dégrader complètement et/ou de transformer les hydrocarbures en produits moins nocifs et ceci à l'aide des micro-organismes.

Les biodégradations peuvent se réaliser soit par des souches pures ou par des consortia de microorganismes (Cerniglia, 1992).

Cependant plusieurs facteurs liés à ces micro-organismes (nombre, capacités métaboliques, etc.) ; aux substrats (caractéristiques physico-chimiques, concentration, biodisponibilité) et à l'environnement (température, pH, etc.) influencent sur l'efficacité de cette biodégradation (Boopathy, 2000).

Ces techniques, relativement peu coûteuses, sont appréciées du grand public (Mcgrath *al.*, 1995). Elles peuvent être subdivisées en plusieurs catégories selon le principe biologique ou mode de dépollution.

### **2.4.1.1. Biostimulation**

La biostimulation consiste à stimuler l'activité et la croissance des microorganismes indigènes du sol par l'ajout de certains composés afin d'améliorer la biodégradation des Polluants. Parmi ces composés, des nutriments, des accepteurs d'électrons ou des donneurs d'électrons peuvent être apportés.

### **2.4.1.2. Bioaugmentation**

Lorsque l'atténuation naturelle et la biostimulation s'avèrent inefficaces, Iwamoto et Nasu, (2001) considèrent que la bioaugmentation doit être appliquée. En effet, la biostimulation correspond à une gestion « à l'aveugle » de la microflore puisque les microorganismes qui bénéficient de cette stimulation ne sont pas forcément ceux impliqués dans la dégradation du contaminant. La bioaugmentation consiste à améliorer la dégradation du polluant par l'ajout de microorganismes spécifiques possédant les capacités catalytiques de dégradation du contaminant ( Iwamoto and Nasu, 2001).

Cette méthode est donc utilisée lorsque la microflore indigène du sol n'est pas optimale dans la métabolisation du composé (Silva *et al.*, 2009). Selon Forsyth et ses collaborateurs (1995), la bioaugmentation doit être appliquée aux sols qui possèdent un nombre faible ou non détectable de microorganismes dégradants, des polluants qui requièrent plusieurs processus de remédiation dont certains nuisibles ou toxiques pour les microorganismes, et qui ont une surface de pollution peu étendue sur laquelle les coûts des méthodes non biologiques sont supérieurs à ceux de la bioaugmentation.

### **2.4.2. Phytoremédiation**

La phytoremédiation consiste à utiliser des plantes et des microorganismes associés afin d'extraire, séquestrer ou dégrader les polluants ( Kuiper *et al.*, 2004).

Ces plantes présentent des mécanismes constitutifs et adaptatifs pour accumuler et tolérer des concentrations élevées en contaminants au niveau de leur rhizosphère (Benfardia et Chenine, 2014).

Lorsqu'elle est appliquée aux sols pollués par les hydrocarbures, la phytoremédiation repose sur plusieurs mécanismes, à savoir la phytodégradation, la phytoaccumulation, la phytovolatilisation, la phytostabilisation, et la rhizoremédiation.

### 2.4.2.1. Phytoextraction

Ce processus correspond à la séquestration du polluant dans la plante (Alkorta et Garbisu, 2001) lorsque celle-ci ne l'a pas rapidement ou complètement dégradé (Susarla et al., 2002).

La phytoextraction est un processus d'extraction et d'accumulation des contaminants dans les tissus des racines et les parties aériennes des végétaux (Lecomte, 1998). Utilisant de plantes accumulatrices (hyper accumulateurs) pour extraire, transporter et concentrer les polluants du sol dans les parties récoltables de la plante.

Pour que cette technique soit efficace, il faut que le polluant soit disponible pour les racines et que celles-ci puissent le tolérer et l'absorber (Koller, 2004).

### 2.4.2.2. Phytostabilisation

Ce procédé consiste à contenir le polluant dans le sol en réduisant sa biodisponibilité et sa mobilité. Les contaminants peuvent être adsorbés au niveau de la surface racinaire ou bien isolés et séquestrés dans la rhizosphère. Les molécules se trouvant dissoutes dans la solution du sol et en dehors de la zone racinaire vont pouvoir être transportées vers les racines grâce au flux de transpiration de la plante (Gaskin, 2008).

Celle-ci va fournir dans la rhizosphère de la matière organique qui va pouvoir conduire à une stabilisation des composés par adsorption ou séquestration. La matière organique peut provenir notamment de la décomposition des racines, un tiers du carbone des débris végétaux restant dans le sol sous forme de composants stables et labiles de l'humus après la première période de croissance de la plante (Zhou, 2010).

La plante peut aussi produire des enzymes qui vont lier les contaminants à la matière organique du sol lors du processus d'humification (Frick et al., 1999). Les composés organiques possédant un log KOW supérieur à 3-3,5 sont fortement sorbés aux racines (Fismes et al., 2002).

Cette technique permet d'éviter la dispersion des polluants dans les eaux de surface et souterraines (Cunningham *et al.*, 1995), et délimite l'érosion et le lessivage du sol. (Pilon-Smits, 2005; Remon, 2006).

### 2.4.2.3. Phytovolatilisation

La phytovolatilisation, désigne les processus d'absorption et de transpiration d'un contaminant par une plante. Le polluant, ou une forme modifiée de celui-ci, passe du sol vers l'atmosphère grâce à la plante et ses mécanismes d'absorption, de métabolisation et de transpiration (Schnoor, 1997). Elle consiste en stimulation de la volatilisation ou moyen de plantes qui absorbent les polluants puis les éliminent par transpiration (Delage et Schrefler, 2005).

Ce processus de phytoremédiation concerne principalement les HAP de faible poids moléculaire (Gerhardt *et al.*, 2009) puisqu'ils sont plus volatils et moins hydrophobes.

### 2.4.2.4. Phytodégradation

Elle correspond à la dégradation du polluant par des processus et des mécanismes internes à la plante (Newman et Reynolds, 2004). Celle-ci possède des enzymes telles que le cytochrome P450 et la glutathion S-transférase pouvant servir à la dégradation des composés toxiques (Gaskin, 2008).

Une fois présent dans la plante, le composé va subir une ou plusieurs phases de détoxification, à savoir, une phase I correspondant à la transformation du polluant (oxydation : cytochrome P450, réduction), une phase II consistant à des réactions de conjugaison (avec la glutathion S-transférase) et enfin, une phase III correspondant à la compartimentation des métabolites (stockage dans une vacuole ou liaison à la paroi cellulaire) ou à leur excrétion (Gaskin, 2008). Peu d'études ont montré une dégradation des HAP directement par phytodégradation (Gaskin, 2008).

L'absorption racinaire dépend alors des propriétés des HAP (Gao *et al.*, 2006 ; Su et Zhu, 2008), de leur concentration dans la solution du sol (Chiouet *al.*, 2001; Su et Zhu, 2008; Watts *et al.*, 2006), des propriétés du sol comme sa teneur en matière organique (Nam et Kim, 2002) et de l'espèce végétale (Fismes *et al.*, 2002).

Les bactéries endophytes (qui colonisent les tissus internes de la plante) peuvent aussi jouer un rôle dans la dégradation des HAP, rendant la phytoremédiation plus efficace (Doty, 2008; Weyenset *al.*, 2009).

Certaines enzymes produites par la plante peuvent directement dégrader le polluant en dehors de la plante.

## 2.4.2.5. Rhizoremédiation (rhizodégradation)

Elle implique la dégradation des polluants *via* la stimulation des microorganismes rhizosphériques (Kuiper et *al.*, 2004). La rhizoremédiation est considérée comme le mécanisme principal de dégradation des HAP en phytoremédiation (Frick et *al.*, 1999) surtout pour ceux de haut poids moléculaire (Gerhardt et *al.*, 2009).

En retour à la stimulation de leur activité, les microorganismes fournissent de nombreux bénéfices à la plante tels que la synthèse de composés qui vont diminuer le niveau de ses hormones de stress, une protection vis-à-vis des pathogènes, un apport de ses éléments nutritifs essentiels en jouant le rôle de chélateurs et bien sûr, la dégradation des contaminants avant qu'ils puissent impacter négativement la plante (Gerhardt et *al.*, 2009).

Bien qu'il existe plusieurs formes de phytoremédiation, tous ces mécanismes (phytodégradation, phytoaccumulation, etc) interagissent ensemble. Ils vont pouvoir agir simultanément ou certains seront plus prononcés que d'autres selon l'espèce végétale utilisée, les caractéristiques physico-chimiques du polluant et sa biodisponibilité ou encore selon les caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol.

## 2.4.2.6. Phytotransformation

Elle favorise la dégradation des molécules organiques complexes en composés plus simples qui seront intégrés dans les tissus végétaux. Elle est généralement associée à la biodégradation en tas (compostage, landfarming) et concerne des polluants facilement biodégradables (Lecomte, 1998).

## 2.4.3. Choix de la plante

Le choix de la plante doit porter sur une espèce résistante au polluant, pérenne, adaptée au milieu, non appétente (s'il s'agit de phytodégradation ou de phytoaccumulation) afin de limiter le transfert des composés de la plante vers les animaux, et ayant un système racinaire dense et profond (Bert, 2013). Il est préférable d'utiliser une espèce végétale native afin de faciliter son établissement dans le milieu vis-à-vis de la compétition avec les autres espèces, du peu de nutriments potentiellement présents dans le sol, ce qui est souvent le cas des zones polluées (Gaskin, 2008), et des conditions climatiques. Les plantes pérennes sont préférées aux plantes annuelles et bisannuelles car elles nécessitent moins d'entretien, sont

plus économiques (Gan *et al.*, 2009 ; Kathi et Khan, 2011) et sont adaptées à la durée importante de dépollution qui caractérise la phytoremédiation.

Pour améliorer la phytoremédiation, il est possible de combiner plusieurs espèces végétales (Mohan *et al.*, 2006) ou d'utiliser des plantes transgéniques. Celles-ci reçoivent des gènes pouvant provenir de différents organismes comme des bactéries, des champignons, des animaux ou des plantes et qui ont la capacité de dégrader le polluant cible.

## 2.4.4. Avantages et limites de la phytoremédiation

### 2.4.4. 1. Avantages de la phytoremédiation

La phytoremédiation est une méthode de réhabilitation *in situ* des sols, non-invasive, basée sur l'exploitation des capacités naturelles de l'environnement à se restaurer lui-même (Gerhardt *et al.*, 2009).

C'est une technique relativement simple à mettre en œuvre et particulièrement efficace lorsqu'elle est combinée à des techniques agronomiques appropriées (compostage, labourage) (Huang *et al.*, 2004; Olson *et al.*, 2008).

La phytoremédiation est de ce fait particulièrement adaptée à la réhabilitation de zones à contamination étendue (Schwitzguébel *et al.*, 2002).

Considérée comme la plus "esthétique" des techniques de réhabilitation, elle est généralement bien acceptée par le public, ce qui constitue une alternative de gestion attractive pour les industriels et administrateurs de sites contaminés (Cunningham *et al.*, 1996; Gerhardt *et al.*, 2009).

Un des « bénéfices » indirect de la phytoremédiation est l'amélioration globale de la qualité du sol (apports en carbone organique, en oxygène, en divers nutriments) et de la structure du sol (augmentation des agrégats, de la porosité et de l'infiltration de l'eau) (Cunningham *et al.*, 1996; Gerhardt *et al.*, 2009).

L'établissement d'un couvert végétal permet également la stabilisation du sol, prévenant de l'érosion éolienne et de l'exposition directe des populations aux micropolluants (McLntyre & Lewis, 1997).

Aussi limite le lessivage des composés et leur transfert vers la nappe phréatique (Bert, 2013) et améliore le site au niveau de sa biodiversité (Bert, 2013; Cunningham *et al.*, 1996).

De plus, il est parfois possible de valoriser économiquement la biomasse produite en éco-matériaux, en biocarburants ou encore en compost (Bert, 2013) ce qui permet de compenser

financièrement la durée importante nécessaire à la remédiation des sites puisque plusieurs saisons de culture sont généralement requises afin de décontaminer un site (Frick *et al.*, 1999).

### **2.4.4.2. Limites de la phytoremédiation**

La phytoremédiation demeure une méthode de réhabilitation de plus longue durée que les techniques de traitement physico-chimiques : plusieurs saisons de culture sont habituellement requises pour la décontamination d'un site (McLntyre & Lewis, 1997).

L'efficacité de la remédiation des polluants est aussi fonction de leur biodisponibilité vis-à-vis des plantes et microorganismes associés (Cunningham *et al.*, 1996).

La contamination du sol à des profondeurs dépassant le mètre par des polluants hydrophobes (type hydrocarbures par exemple), diminue grandement les possibilités de rhizoremédiation car ceux-ci migrent difficilement vers les racines durant l'absorption racinaire (Cunningham *et al.*, 1996).

## I. Matériel

### 1.1. Le sol

Le sol pollué sur lequel notre étude expérimentale a été réalisée est un sol issu d'une station de service située au niveau de la commune de Bouzeguène de la wilaya de Tizi-Ouzou. Les prélèvements ont eu lieu le 25/03/2019 et correspondent à la couche superficielle du sol (0-25cm).

Le sol non pollué utilisé pour la culture témoin a été prélevé au niveau d'un terrain non pollué de la commune de Bouzeguène.

### 1.2. Matériel biologique

Pour réaliser les essais de phytoremédiation du sol pollué par les hydrocarbures, nous avons utilisé deux espèces végétales différentes à savoir le trèfle et le maïs.

#### 1.2.1. Le trèfle

Le trèfle est une légumineuse prairial, de courte durée, rustique, et très reproductrice. C'est une plante diploïde et allogame, à pollinisation entomophile, elle est fourragère de premier ordre (Soltner, 1990 *in* Kessi, 2014).

##### 1.2.1.1. Classification botanique

D'après Cronquist (1981), la classification botanique du trèfle est comme suite :

Règne.....plantae  
Sous règne.....Tracheobiota  
Division.....Magnoliophyta  
Classe.....Magnoliopsida  
Ordre.....Fabales  
Famille.....Fabaceae  
Genre.....*Trifolium*  
Espèce..... *Trifolium alexandrium*

### 1.2.1.2. Caractéristique du trèfle

Le trèfle est caractérisé par une tige simple, sa hauteur est comprise entre 40 et 80 cm, les racines sont légèrement pivotantes. Son système racinaire est moins fasciculé et plus profond que celui des graminées. Le trèfle résiste très bien au froid, mais mal à l'enneigement persistant. Il préfère les climats à degré hygrométrique élevé. Il est plus exigeant en eau, s'adapte mieux à des sols variés. Il résiste à l'excès d'humidité hivernal (Soltner, 1990).

### 1.2.2. Maïs

Le maïs est une plante tropicale herbacée annuelle de la famille des Poacées (Graminées), largement cultivée comme céréale pour ses grains riches en amidon, mais aussi comme plante fourragère (Nyabyenda, 2005).

#### 1.2.2.1. Classification botanique

Selon Cronquist (1981), sa position systématique est la suivante :

Règne.....	Plantae
Sous-règne.....	Tracheobionta
Division.....	Magnoliophyta
Classe.....	Liliopsida
Sous-classe.....	Commelinidae
Ordre.....	Cyperales
Famille.....	Poaceae
Sous-famille.....	Panicoideae
Tribu.....	Maydeae
Genre .....	<i>Zea</i>
Espèce.....	<i>Zeamays L.</i>

**1.2.2.2. Caractéristique du maïs**

Le maïs forme une seule tige principale pouvant atteindre 1 à 4m de hauteur sur laquelle se forment toutes les feuilles. Le maïs forme de nombreuses racines fibreuses et vigoureuses qui se trouvent, pour la plupart, dans les premiers centimètres du sol. Dans certaines conditions, le maïs développe des racines adventives qui lui servent également de support. Bien que le maïs puisse croître sur plusieurs types de sols, il se trouve le mieux sur des sols fertiles, riches en matière organique, bien drainés et aérés avec un pH 6 à 7. Le maïs est une plante indicatrice de la fertilité du sol (Nyabyenda, 2005). Cependant, le maïs préfère les sols profonds et riches ; mais il peut s'accommoder à des conditions plus difficiles, comme les sols sableux et argileux (Soltner, 1990).

**1.2.3. Substrats organiques**

Nous avons utilisé deux types d'amendements de nature organique (C, CA) pour les essais de phytoremédiation.

**II. Méthode****2.1. Préparation du sol**

Les échantillons de sol ont été prélevés (le sol pollué ou le sol non pollué) à une profondeur allant de 0 à 25 cm puis séché à l'air libre pendant 10 jours. Ensuite le sol est tamisé avec différents tamis (diamètre de 6 à 2 mm) afin d'éliminer le gravier et les débris de végétaux et d'animaux, et obtenir un sol avec une structure fine ( $\emptyset \leq 2$  mm). Puis le sol est bien mélangé pour former un lot bien homogène.

Une fraction de sol de chaque lot a été récupérée et stockée à 4°C pour y effectuer des analyses physico-chimique et microbiologique ultérieurement.

Le sol pollué dilué c'est du sol pollué (SP) auquel nous avons ajouté du sol non pollué (SNP) dans un rapport 4/1.

**2.2. Méthodes d'analyses physico –chimiques****2.2.1. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)**

Pour nos échantillons de sol nous avons mesuré le pH eau qui correspond à l'acidité réelle et prend en compte la concentration en ions  $H_3O^+$  libres dans la solution.

Le pH des échantillons a été déterminé selon la norme AFNOR X 31-103 (AFNOR, 1994).

Le sol est mis en suspension dans de l'eau distillée dans un rapport 2/5 (masse/volume) puis soumise à une agitation pendant 60 minutes à une température proche de 20°C. Après 2h de décantation, la lecture au pH-mètre de type INOLAB est faite après stabilisation.

### **2.2.2. Mesure de la conductivité électrique (CE)**

La conductivité électrique est une mesure qui donne une approximation de la concentration des sels solubles présents dans l'échantillon. La norme utilisée est la NF X 31-113 qui est basée sur l'extraction des sels d'un échantillon, solubles dans l'eau distillée, dans des conditions bien définies et dans un rapport sol sec/eau égal à 1/5 (m/v).

Pour cela 10 g du sol sont dissout dans 50ml d'eau distillée et mis en agitation pendant 30min. Après filtration, la conductivité de la solution obtenue est mesurée à l'aide d'un conductimètre de type PHYWE (AFNOR, 2006). Le résultat est exprimé en  $\mu\text{s}/\text{cm}$  et est corrigé à une température de 25 °C (AFNOR, 1987).

### **2.2.3. Mesure de l'humidité du sol**

La teneur pondérale en eau du sol a été déterminée par la méthode gravimétrique en séchant un échantillon de sol à l'étuve (105 °C) jusqu'à atteindre un poids constant, selon la norme NF ISO 1146. Le taux d'humidité exprimé en % est obtenu selon la formule suivante :

$$\mathbf{H\ (\%) = (p_0 - p_1) / p_0}$$

Avec :

**p<sub>0</sub>** : Poids de la prise d'essai du sol avant séchage (g) ;

**p<sub>1</sub>** : Poids de la prise d'essai du sol après séchage à 105 °C (g) ;

**H** : Taux de l'humidité (%).

### **2.2.4. Mesure du taux de carbone organique et de la matière organique**

La mesure du carbone organique total (COT) est un moyen indirect d'accéder à la quantité de matière organique dans le sol.

Le dosage se fait par la méthode de « ANNE », selon (Henin et *al.*, 1969), dont le principe repose sur l'oxydation du carbone organique en CO<sub>2</sub> par un mélange de bichromate de potassium et l'acide sulfurique à chaud ; l'excès de bichromate est titré à froid par une solution de sel de Mohr.

Nous avons introduit 2g de sol (fraction fine) dans les ballons de 250 ml avec 10 ml de la solution de bichromate de potassium à 8% et 15 ml d'acide sulfurique concentré. Puis les ballons sont portés à ébullition douce pendant 5 mn.

Après refroidissement, la solution est transvasée dans une fiole de 250 ml et ajusté avec les eaux de rinçage. Une aliquote de 20 ml a été prélevée additionnée de 200ml d'eau distillée, d'une pincée de fluorure de sodium (NaF) et de 4 à 5 gouttes de diphénylamine.

Le bichromate en excès a été titré à froid à l'aide d'une solution réductrice de sel de Mohr. Le dosage du témoin donne un volume du témoin ( $V_T$ ) de solution réduite (sel de Mohr).

Le dosage de l'échantillon donne volume de l'essai ( $V_E$ ) de solution réduite (sel de Mohr). La teneur en carbone organique pour 100g de sol est donnée par la formule suivante :

$$C(\%) = \frac{(V_t - V_e) \times 0,615 \cdot 10 \cdot 100}{p}$$

Avec :

**C(%)** : pourcentage de carbone organique (%) ;

**V<sub>t</sub>** : volume du témoin (ml) ;

**V<sub>e</sub>** : volume de l'essai (ml) ;

**P** : prise d'essai (mg).

On admet que le carbone représente 58% de la matière organique totale. Le taux de la matière organique est exprimé par la formule suivante :

$$\text{MO (\%)} = 1,72 \cdot \text{C (\%)}$$

Avec :

**MO (%)** : Taux de la matière organique du sol ;

**C (%)** : Taux de carbone organique.

### **2.2.5. Mesure de la teneur des Hydrocarbures totaux dans le sol**

Pour le dosage des hydrocarbures totaux (HCT) nous nous sommes inspirés de la méthode d'extraction par solvant.

Pour cela il a été préparé une suspension sol-solvant « Dichlorométhane » dans un rapport 1/5 (m/v), qui a été soumise à une agitation de 2 heures de temps, puis filtrée à travers la laine de verre. Les extraits obtenus sont laissés dans une hotte pendant 2-3 jours jusqu'à l'évaporation totale du solvant puis la masse résiduelle des HCT présents dans la prise d'essai du sol est mesurée avec une balance de précision.

### **2-3 Analyse microbiologique : Dénombrement de la flore mésophile totale**

La population des micro-organismes vivants dans le sol pollué par les hydrocarbures a été déterminée par la méthode de dilution décimale en série.

En premier nous avons préparé une suspension sol avec de l'eau physiologique stérile dans un rapport (1/5) que l'on a soumis à une agitation pendant 60min suivi d'une décantation (60min de repos) et filtration. A partir du filtrat nous avons réalisé une série de dilutions décimales ( $10^{-1}$  à  $10^{-9}$ ) avec de l'eau physiologique stérile. A partir de ces dilutions nous avons procédé à l'ensemencement sur gélose nutritive (GN) pour le dénombrement des bactéries (incubation pendant 2 à 3 jours à 30°C), et sur le milieu Potatoes Dextrose Agar (PDA) pour le dénombrement des champignons (incubation pendant 7 jours à 28°C) comme cela est schématisé dans la figure 1.

Après l'incubation, les colonies développées sont dénombrées à l'aide d'un compteur de colonies de type SELECTA 0535042 Equilab 2010.

Le nombre de germes est déterminé en calculant la moyenne arithmétique des résultats obtenus et en tenant compte des facteurs de dilution Marchal et Bourdon (1982), selon la formule suivante :

$$N = \text{Nombre de colonies obtenue} / V (n_1 + 0.1 * n_2) * d$$

Avec :

**V** : Volume de solution déposée (1ml);

**n<sub>1</sub>** : Nombre de boîtes considéré à la première dilution retenue;

**n<sub>2</sub>** : Nombre de boîtes considéré à la seconde dilution retenue;

**d** : Facteur de la première dilution retenu;

**N** : Nombre d'UFC par gramme.

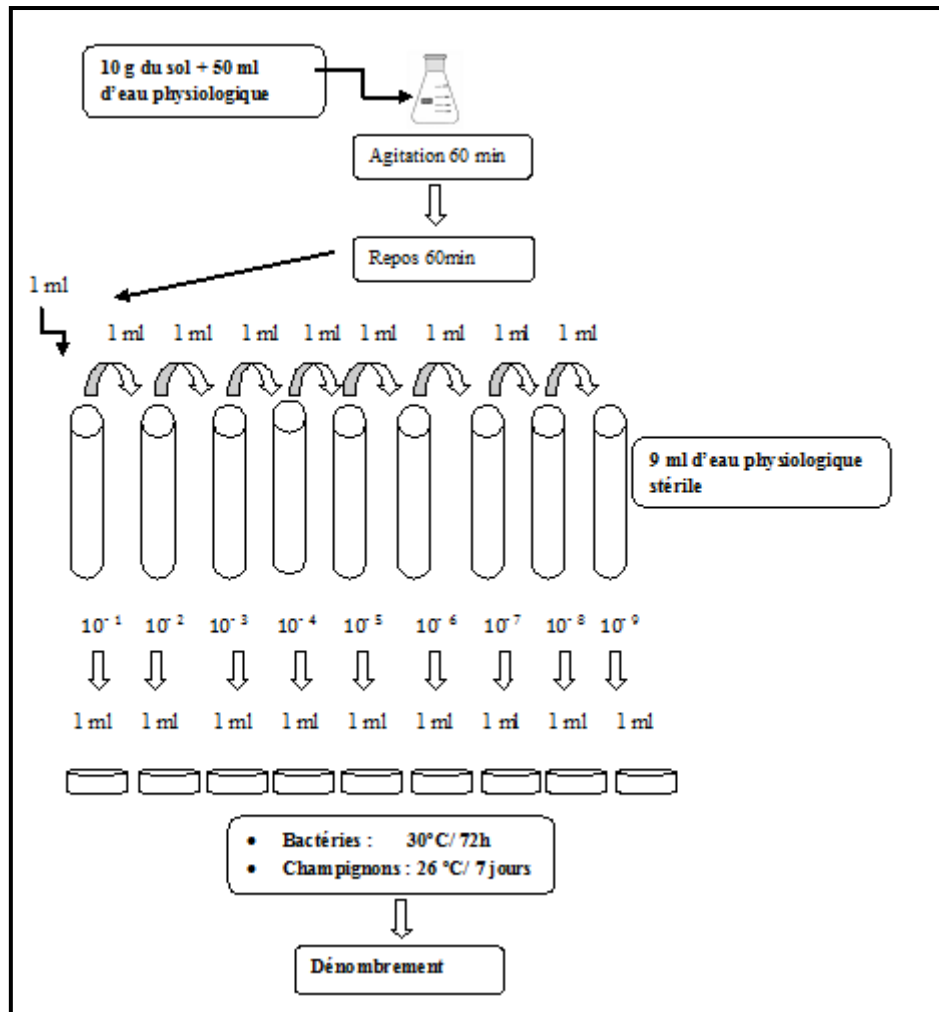


Figure 1 : Schéma du protocole de dénombrement de la flore totale du sol.

## 2.4. Méthode de phytoremédiation

### 2.4.1. Test de germination

Avant de réaliser les essais de phytoremédiation en pots nous avons réalisé des tests de germination sur différents échantillons de sol (sol non pollué, sol pollué avec ou sans amendement).

Le test de germination permet d'évaluer la capacité des espèces végétales (blé, maïs, luzerne, trèfle et sorgo) à germer puis à croître sur les matériaux pollués.

En premier, les semences des graines ont été triées à la main en fonction de leur bon état visuel puis elles ont été désinfectées en surface par immersion dans du peroxyde d'hydrogène

2% (v/v) pendant 8 min (Qiu et *al.*, 2001). Ensuite, les graines ont été bien rincées trois fois avec de l'eau stérile et utilisées pour l'expérience.

Un test de germination a été réalisé en mettant dans chaque boîte de Pétri 100 g du sol contenant 4 graines de maïs, 10 graines de trèfle, 10 graines de luzerne, 6 graines de blé et 6 graines de sorgo avec deux répétitions. Les graines ont été laissées germer dans des conditions favorables avec un arrosage régulier pendant 10 jours.

Pour estimer l'efficacité de la germination de nos graines, nous avons calculé le taux de germination (TG%) dans chaque boîte selon la formule suivante :

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

### 2.4.2. Procédé des essais de phytoremédiation

La mise en place de la culture pour les essais de phytoremédiation a été réalisée du 20/05/2019 au 01/07/2019 pour les deux espèces.

Le semis des deux espèces végétales sélectionnées a été réalisé en monoculture (20 graines pour le trèfle et 10 graines pour le maïs) dans 400g de sol conditionné dans des pots en PVC, ayant une hauteur 14 cm et dont les diamètres supérieurs et inférieurs sont respectivement de 12cm et 10cm. Afin de laisser drainer l'eau en excès et éviter l'asphyxie des plantules, le fond des pots a été perforé, puis tapissé d'une petite couche de gravier fin.

Les expériences sont réalisées avec deux répétitions (figure 1) et dans les mêmes conditions d'éclairage et d'aération.

L'emplacement des pots a été changé au hasard tous les jours et l'arrosage des cultures s'est fait selon le besoin. La température du jour variait de 16 à 40 °C et la température de nuit de 4 à 14 °C.

Un désherbage est fait à chaque observation des mauvaises herbes dans les pots.

La durée de nos essais a été courte car la plupart des plantes étaient soit mortes soit qu'il y a eu dessèchement des feuilles (cas du maïs).

Pour les essais de phytoremédiation faites avec le maïs celles-ci ont été faites sur du sol pollué dilué. Ceci du fait que le test de germination a montré un faible taux de germination des graines de maïs dans le sol pollué à l'état brut de la station d'essence.

La conception expérimentale comprenait les expériences suivantes

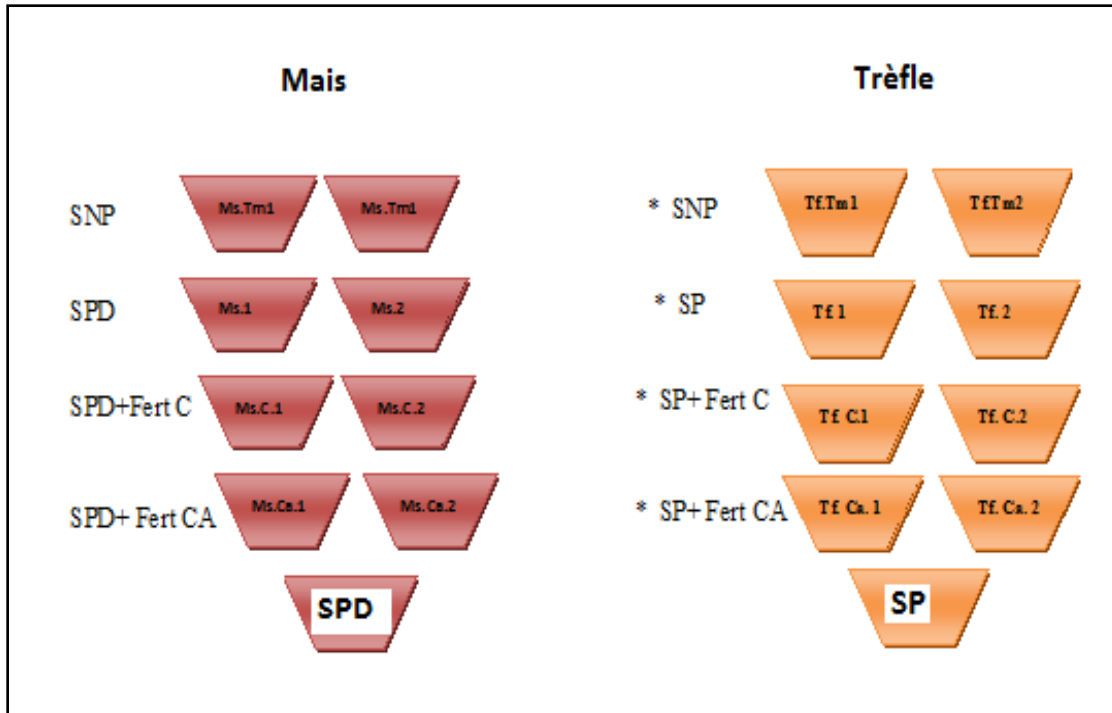


Figure 2 : Schéma du dispositif des cultures du maïs et du trèfle utilisées pour la phytoremédiation.

1. Témoin sans culture (**SPT**) : sol pollué non cultivé ;
2. Témoin avec Culture de Trèfle (**SNP TR**): culture de Trèfle sur un sol non pollué ;
3. Témoin avec Culture de Maïs (**SNP Ms**): culture de Maïs sur un sol non pollué ;
4. Traitement 1 (**SP TR**) : culture de Trèfle dans un sol pollué ;
5. Traitement 2 (**SP TR C**) : culture de Trèfle dans un sol pollué amendé avec le substrat « C ».
6. Traitement 3 (**SP TR CA**) : culture de Trèfle dans un sol pollué amendé avec le substrat « CA ».
7. Traitement 4 (**SPD Ms**) : culture de Maïs dans un sol pollué dilué;
8. Traitement 5 (**SPD Ms C**): culture de Maïs dans un sol pollué dilué amendé avec le substrat « C ».
9. Traitement 6 (**SPD Ms CA**) : culture de Maïs dans un sol pollué amendé avec le substrat « CA ».

**2.4.3. Méthodes de mesure des paramètres de croissance des végétaux**

Les pousses et les racines des plantes ont été récoltées séparément 40 jours après le semis. Les fragments des racines ont été recueillis par tamisage de la terre et ont été ajoutés aux échantillons de racines. Les pousses et les racines ont été soigneusement lavées à l'eau du robinet puis rincées avec de l'eau déminéralisée pour éliminer toutes les particules de sol adhérent, et ensuite séchées avec du papier filtre.

Après l'enlèvement des plantes, le sol de chaque pot a été homogénéisé. A partir des différents échantillons de sol et de plantes fraîches, des fractions ont été conservées dans le réfrigérateur à 4 ° C, pour éviter toute nouvelle dégradation microbienne des HAP, et quiafin réaliser ultérieurement différentes analyses microbiologiques et chimiques plus poussées.

Pour évaluer l'impact des hydrocarbures sur les plantes, un suivi régulier de la croissance des plantes (hauteur et nombre des feuilles), ainsi que la mesure de la longueur des racines et de la biomasse en fin de culture des différentes plantes ont été effectués comme expliqué ci-dessous.

**2.4.3.1. Taux de levée**

Il s'agit de calculer le pourcentage de levée des plantes dans chaque pot, par la formule suivante :

$$\text{Taux de levée} = (\text{nombre de plantes levées} / \text{nombre total de graines}) \times 100$$

**2.4.3.2. Mesure de la hauteur de la tige des plantes et du nombre des feuilles**

Après 40 jours du semis le nombre de feuilles a été dénombré, et la hauteur des tiges s'est faite à l'aide d'une règle graduée depuis le ras du sol jusqu'au dernier entrenœud présent sur la tige.

### 2.4.3.3. Mesure de la longueur des racines

En fin d'expérimentation nous avons déterré les plantes puis séparé la partie aérienne de la partie racinaire à l'aide d'une lame au niveau du collet. Le système racinaire est lavé avec de l'eau distillée pour éliminer toutes les particules susceptibles de fausser les résultats. Puis à l'aide d'une règle graduée nous avons mesuré la longueur des racines.

### 2.4.3.4. Mesure de la biomasse racinaire et aérienne séchée.

La biomasse de la partie aérienne et de la partie racinaire a été estimée à la fin de culture. Pour ce faire les parties racinaires ont été séchées à l'étuve à 45°C pendant 7 jours jusqu'à l'obtention d'un poids constant puis pesées avec une balance de précision de 1/100.

## 3- Méthodes d'analyse statistiques

Les résultats concernant les paramètres physico-chimiques et paramètres de croissance pour les sols non pollués et pollués cultivés avec les deux espèces (trèfle et maïs) ont fait l'objet d'analyse de la variance. La normalité des données a été vérifiée par le test de Shapiro-Wilk. Le test de Newman et Keuls permet la détermination des groupes homogènes, lorsque les différences entre les moyennes sont significatives avec le facteur sol. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel R.

## I- Résultats

### 1. Résultats de la caractérisation des échantillons du sol

Les résultats relatifs à l'analyse physico-chimique des différents échantillons de sol à savoir le sol non pollué (SNP), du sol pollué dilué (SPD) et du sol pollué (SP) sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 1** : Résultats des analyses physico-chimiques et biologiques des échantillons de sol

Paramètres	SNP	SPD	SP
<b>PH eau</b>	7,82	8,15	8,2
<b>Conductivité électrique (<math>\mu\text{s}/\text{cm}</math>)</b>	280	300	175
<b>Humidité (%)</b>	6,2	3,5	2,9
<b>Matière organique (%)</b>	4,522095	4,892325	4,945215
<b>Hydrocarbures totaux (g/kg sol)</b>	/	11,91	23,91
<b>Flore bactérienne (UFC/g)</b>	/	$1,4 \times 10^8$	$4,6 \times 10^8$
<b>Flore fongique (UFC/g)</b>	/	28	40

### 2. Résultats des essais de la phytoremédiation

#### 2.1 Test de germination

Afin de choisir les plantes que nous utiliserons dans nos essais de phytoremédiation, nous avons effectué un test de germination au préalable de différentes espèces à savoir : le sorgo, la luzerne, le trèfle, le blé et le maïs dans du coton et dans les différents échantillons de sol (SNP, SP et SPD).

D'après les résultats du test de germination présentés dans la figure 1, nous avons constaté que le trèfle a donné le meilleur résultat de germination dans les deux sols (SP et SPD) avec un pourcentage de 100%, suivi du maïs dont le taux est de 50% dans le sol pollué néanmoins il a bien germé dans le sol pollué dilué (100%). Pour le sorgo et le blé ces derniers ont présenté un faible de taux de germination. De ce fait nous avons opté de réaliser des cultures avec le trèfle dans le sol pollué et des cultures avec le maïs dans le sol pollué dilué.

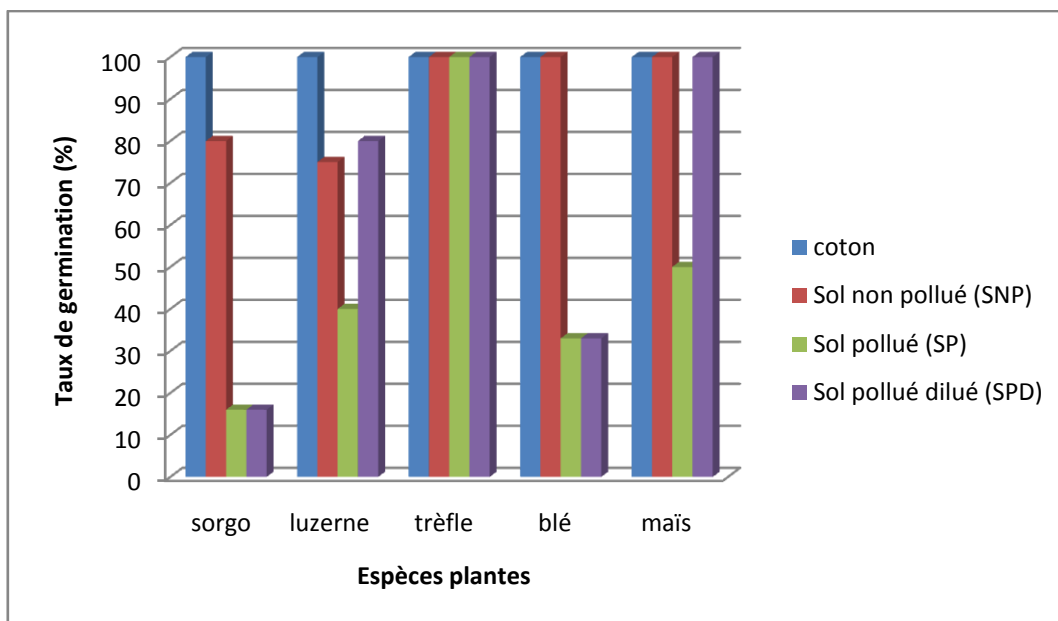
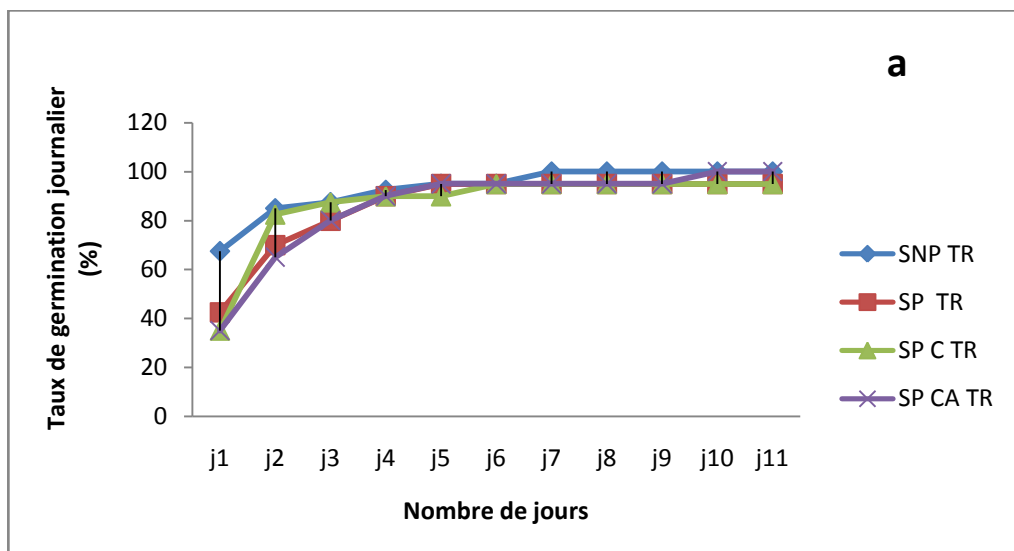


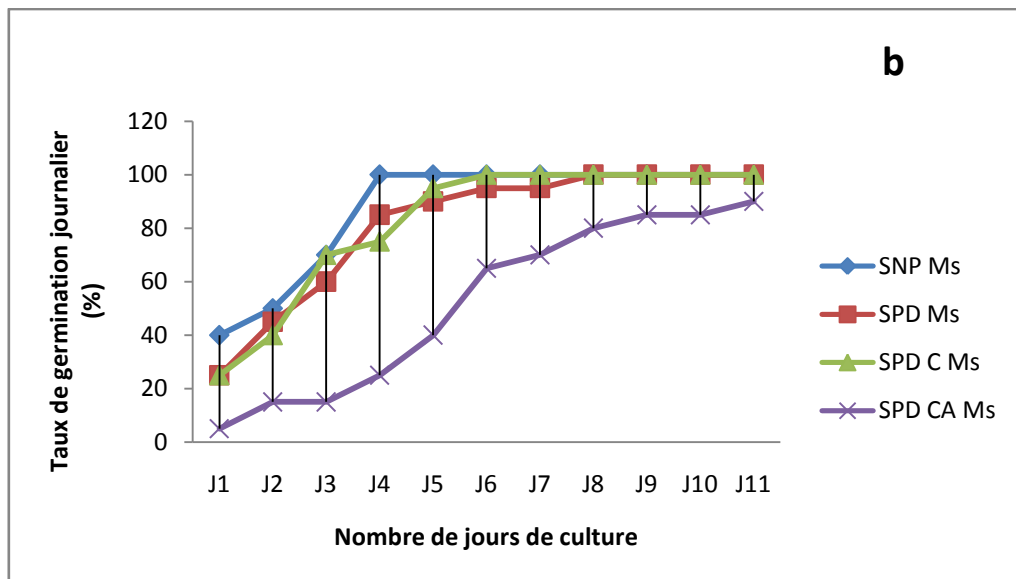
Figure 3 : Résultats du test de germination des plantes dans les différents échantillons de sol.

### 3. Résultats de l’analyse des paramètres de croissance des plantes

#### 3.1.1. Taux de levée

Les figures 5 représentent le taux de levée du trèfle et du maïs cultivées dans les différents échantillons de sol.





**Figure 4 :** Taux de levée du trèfle (a) et du maïs (b) cultivées dans les différents types de sols pollués et non pollué. (Ms : maïs ; TR : trèfle ; SNP : sol non pollué ; SP : sol pollué ; SPD : sol pollué dilué ; C : substrat C ; CA : substrat CA).

Les résultats de l'évolution du taux de levée du trèfle et du maïs représentés dans la figure 5 montrent que durant les quatre premiers jours de culture la vitesse de germination des plantes cultivées sur le sol non pollué (SNP) était plus élevée que de celle des plantes cultivées sur sols contaminés avec ou sans amendement (SP, SPD, SP C, SP CA).

Le taux de germination du trèfle atteint son maximum 95% dans les différents types de sols au bout de cinq jours. Par contre la levée des graines du maïs atteint 100% au bout de six jours dans les trois sols : sol non pollué, sol pollué dilué et le sol pollué dilué amendé par le substrat C (SNP Ms, SPD Ms, SPD C Ms)

Il y a lieu de noter que la vitesse de levée des graines du maïs dans le sol pollué dilué amendé par le substrat CA était plus faible atteignant son maximum de 90% qu'à partir du 11<sup>ème</sup> jour.

Concernant les analyses de la variance des résultats obtenus pour la levée du trèfle et du maïs ils ont montré qu'il n'y a pas une différence significative. De ce fait on en déduit qu'il n'y a pas d'effet de facteur sol sur la levée de ces espèces.

**Tableau 2** : Analyse de la variance du taux de levée des plantes de trèfle

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Sol	3	37.50	12.50	1.000	0.478949
Résiduelle	4	50.00	12.50		

**Tableau 3** : Analyse de la variance du taux de levée du maïs

Source de variation	Df	P value
Sol	3	0.0719
Résiduelle	4	

### 3.1.2 Hauteur des plantes

La figure 5 montre le dispositif des pots de culture du trèfle et du maïs réalisés dans le cadre de nos essais de phytoremédiation.

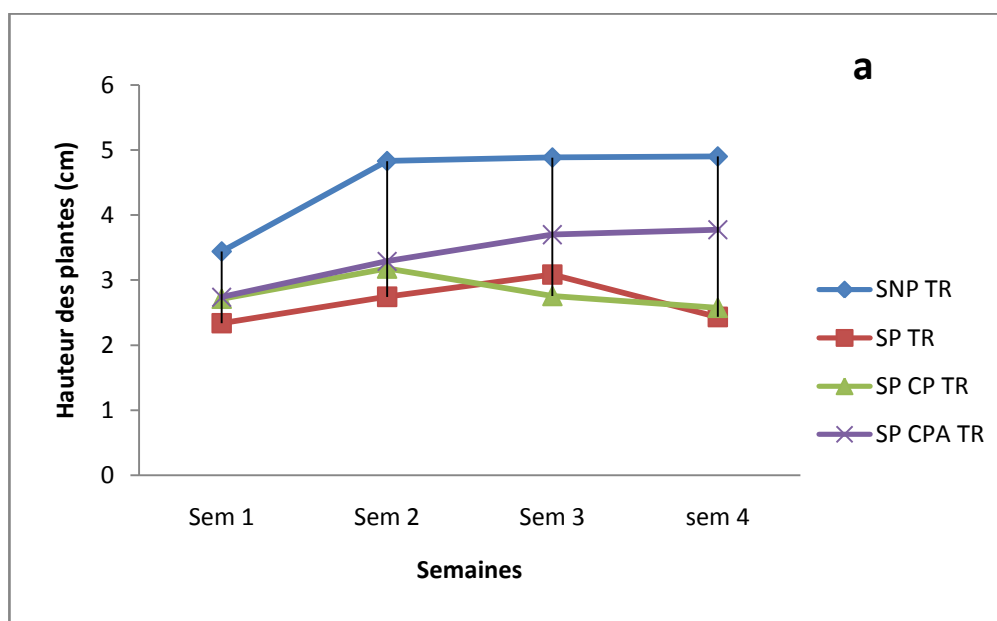


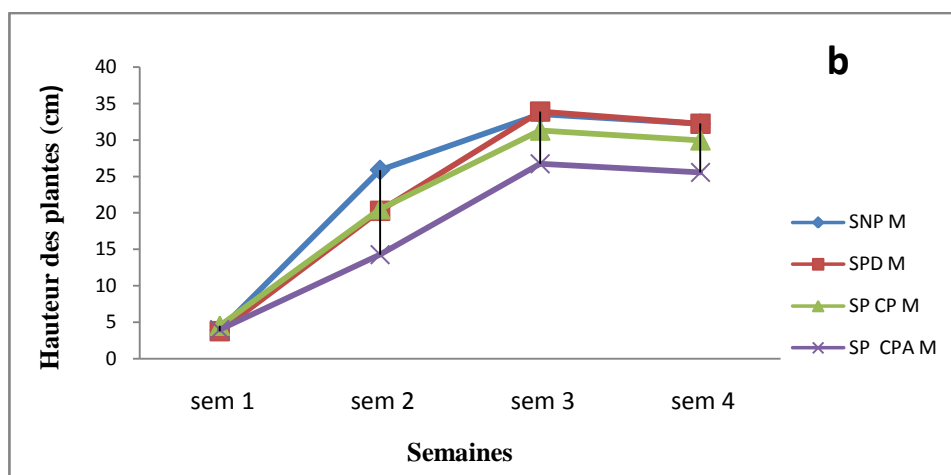
**Figure 5** : photo illustrant la croissance de maïs et de trèfle dans les différents échantillons de sol (photo originale, 2019).

La figure 6 portant sur l'évolution hebdomadaire de la hauteur moyenne des plantes du trèfle et du maïs cultivées dans les sols pollués et non pollués montre une croissance importante durant les deux premières semaines qui connaît un abaissement à partir de quatrième semaine de culture.

Au bout de deux semaines nous avons constaté que la hauteur du trèfle augmente dans les quatre types de sols. Nous avons enregistré une valeur maximale de 4,9 cm dans le sol non pollué, une valeur moyenne de 3,08 cm dans le sol pollué, et une valeur qui ne dépasse pas 2,7 cm dans le sol amendé par les C et CA.

La hauteur maximale pour le maïs est atteinte au bout de la troisième semaine qui est de 33,55 cm dans le sol non pollué et de 33,9 ; 31,3 et 26,7 cm respectivement pour les plantes cultivées dans le sol pollué dilué ; le sol pollué dilué amendé par le substrat C et le sol pollué dilué amendé par le substrat CA.





**Figure 6 :** Evolution de la hauteur hebdomadaire du trèfle (a) et du maïs (b) cultivées dans les différents types de sols pollués et non pollué. (Ms : maïs ; TR : trèfle ; SNP : sol non pollué ; SP : sol pollué ; SPD : sol pollué dilué ;C : substrat C ; CA : substrat CA).

L’analyse de la variance des résultats obtenus pour la hauteur des plantes hebdomadaire du trèfle a montré qu’il y a une différence significative. (P-value= 0.020342).

Donc il y a un effet de facteur sol sur la hauteur des plantes hebdomadaire du trèfle.

**Tableau 4:** Analyse de la variance de la hauteur des plantes hebdomadaire du trèfle à la fin de culture

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Sol	3	6.38054	2.12685	11.2346	0.020342
Résiduelle	4	0.75725	0.18931		

Le test de Newman et Keuls a fait ressortir deux groupes homogènes. Le premier groupe A contient le sol non pollué cultivé par le trèfle (SNP TR) avec une moyenne de 4,880. Le deuxième groupe B contient le sol pollué cultivé par le trèfle (SP TR), le sol pollué cultivé par le trèfle amendé par le substrat C (SP C TR), et le sol pollué cultivé par le trèfle amendé par le substrat CA (SP CA TR) avec des moyennes respectives de 3,080 ; 2,755 et 2,700.

**Tableau 5** : Test de Newman et Keuls pour la hauteur des plantes hebdomadaire du trèfle

Sols	Moyennes	Groupes
S1 (SNP TR)	4.880	A
S2 (SP TR)	3.080	B
S3 (SP C TR)	2.755	B
S4 (SP CA TR)	2.700	B

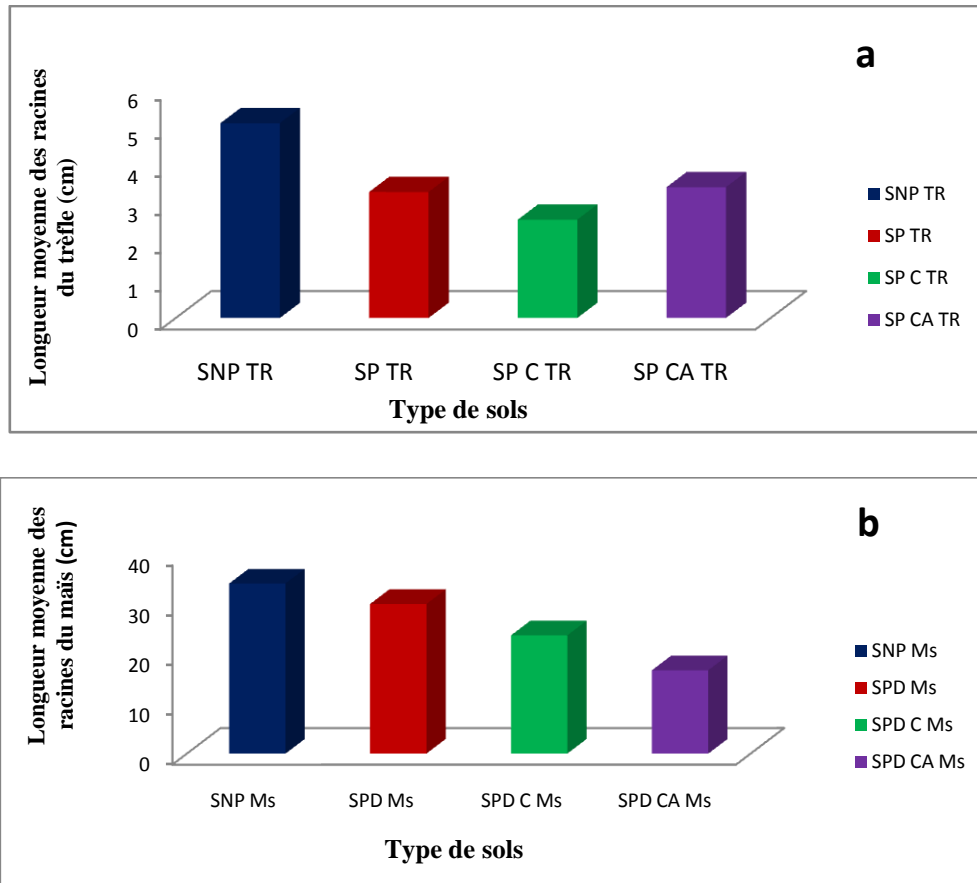
L'analyse de la variance des résultats obtenus pour la hauteur des plantes hebdomadaire du maïs a montré qu'il n'y a pas d'effet du facteur sol sur la hauteur hebdomadaire des plantes de maïs.

**Tableau 6** : Analyse de la variance des résultats de la hauteur hebdomadaire des plantes du maïs

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
<b>Sol</b>	3	59.947	19.9825	4.6963	0.08462
<b>Résiduelle</b>	4	17.020	4.2549		

### 3.1.3 Longueur des racines des plantes

D'après les résultats relatifs à la longueur des racines en fin de traitement (voir figure 8), il en ressort que la longueur moyenne des racines la plus élevée a été observé chez les plantes cultivées sur sol non pollué (5,1 cm pour le trèfle et 34,16 cm pour le maïs). Cependant la longueur des racines était moindre pour les plantes du trèfle cultivées sur le sol pollué avec ou sans amendement (2,575 à 3,425 cm), ainsi que pour le maïs cultivées sur le sol pollué dilué (16,74 à 30,05 cm).



**Figure 7:** Evolution de longueur racinaire du trèfle (a) et le maïs (b) cultivé dans les différents types de sols pollués et non pollués en fin de traitement. (Ms : maïs ; TR : trèfle ; SNP : sol non pollué ; SP : sol pollué ; SPD : sol pollué dilué ; C : substrat C ; CA : substrat CA).



**Figure 8 :** Photo illustrant les parties aériennes et racinaires du trèfle et du maïs en fin de culture (photo originale, 2019).

L'analyse de la variance des résultats obtenus pour la longueur racinaire du trèfle a montré qu'il y a une différence très hautement significative.

Donc il y a un effet de facteur sol sur la longueur racinaire de cette espèce.

**Tableau 7:** Analyse de la variance de la longueur racinaire des plantes de trèfle

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Sol	3	6.9459	2.31531	205.81	7.752e-05***
Résiduelle	4	0.0450	0.01125		

Le test de Newman et Keuls a révélé trois groupes homogènes. Le groupe A contient le sol non pollué (SNP TR) avec une valeur de 5,100. Le groupe B contient le sol pollué amendé par le substrat CA (SP CA TR) et le sol pollué (SP TR) avec les deux moyennes respectives de 3,425 et 3,300. Le dernier groupe C contient le sol pollué amendé par le substrat C (SP C TR) avec une moyenne de 2,550.

**Tableau 8 :** Groupes homogènes de la longueur racinaire du trèfle

Sols	Moyennes	Groupes
S1 (SNP TR)	5.100	A
S4 (SP CA TR)	3.425	B
S2 (SP TR)	3.300	B
S3 (SP C TR)	2.550	C

L'analyse de la variance des résultats obtenus pour la longueur racinaire du maïs a montré qu'il y a une différence hautement significative.

Il existe donc un effet du facteur sol sur la hauteur de la longueur racinaire des plantes de maïs. (P=0.030880).

**Tableau 9 :** Analyses de la variance de la longueur racinaire du maïs

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Sol	3	347.351	115.784	8.8203	0.030880
Résiduelle	4	52.508	13.127		

Le test de Newman et Keuls a donné trois groupes homogènes concernant la longueur racinaire pour le facteur sol. Le groupe A qui contient le sol non pollué (SNP Ms), le sol pollué dilué (SPD Ms) avec les moyennes respectives 34,16 et 30,05. Le groupe AB contient le sol pollué dilué amendé par le substrat C (SPD C Ms) avec 23,75. Le groupe B contient le sol pollué dilué amendé par le substrat CA (SPD CA Ms) avec une moyenne de 16,74.

Dans notre expérience, nous avons constaté que les racines du maïs dans les sols pollués ont subi un stress, les racines étaient fines et longues par rapport au sol non pollué où elles étaient épaisses.

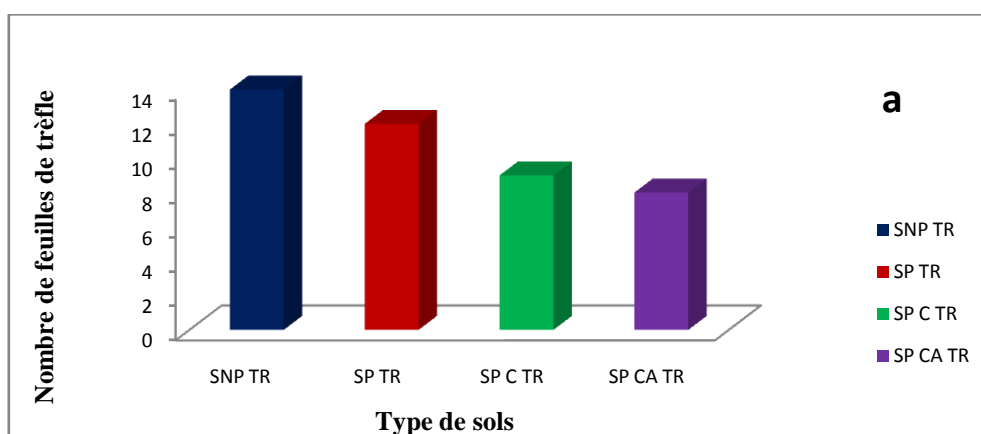
**Tableau 10** : Groupes homogènes de la longueur racinaire du maïs pour le facteur sol déterminé par le test de Newman et Keuls

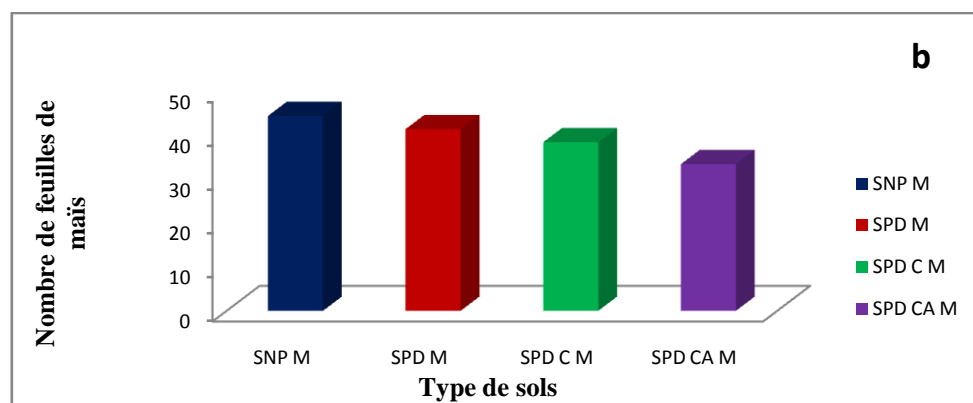
Sols	Moyennes	Groupes
S1 (SNP Ms)	34.16	A
S2 (SPD Ms)	30.05	A
S3 (SPD C Ms)	23,75	AB
S4 (SPD CA Ms)	16.74	B

### 3.1.4. Nombre de feuilles des plantes

En fin de l'expérience de culture, nous avons noté que le nombre de feuilles variait selon le type de sol allant de 9 à 14 pour le trèfle et environ de 34 à 45 pour le maïs.

On note aussi que le nombre de feuilles est plus élevé chez les plantes de trèfle et de maïs cultivées sur le sol non pollué que celles cultivées sur les différents échantillons de sols pollués. Ceci montre que ces espèces présentent une sensibilité aux hydrocarbures.





**Figure 9 :** Nombre de feuilles de trèfle (a) et le maïs (b) cultivés dans les différents types de sols. (Ms : maïs ; TR : trèfle ; SNP : sol non pollué ; SP : sol pollué ; SPD : sol pollué dilué ; C : substrat C ; CA : substrat CA).

L'analyse de la variance des résultats obtenus pour le nombre de feuilles du trèfle a montré qu'il n'y avait pas une différence significative.

Donc il n'y a pas d'effet du facteur sol sur le nombre de feuilles de cette espèce.

**Tableau 11 :** Analyse de la variance de nombre de feuilles des plants de trèfle

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Sol	3	45.5	15.167	3.3704	0.1356
Résiduelle	4	18.0	4.500		

L'analyse de la variance des résultats obtenus pour le nombre de feuilles du maïs a montré qu'il y a une différence significative pour le facteur sol sur le nombre de feuilles. (P-value = 0.018113).

**Tableau 12 :** Analyse de la variance du nombre de feuilles du maïs

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Sol	3	90.00	30.00	12.00	0.018113
Résiduelle	4	10,00	2,50		

Le test de Newman et Keuls a donné quatre groupes homogènes pour le facteur sol. Le premier groupe A qui a représenté le sol non pollué (SNP Ms) avec une moyenne de 44,50. Le groupe AB contient le sol pollué dilué (SPD Ms) avec une moyenne de 41,50. Le groupe BC contient le sol pollué dilué amendé par le substrat C (SPD C Ms) avec une moyenne de 38,50.

Le groupe C a représenté le sol pollué dilué amendé par le substrat CA (SPD CA Ms) avec une moyenne de 35,5.

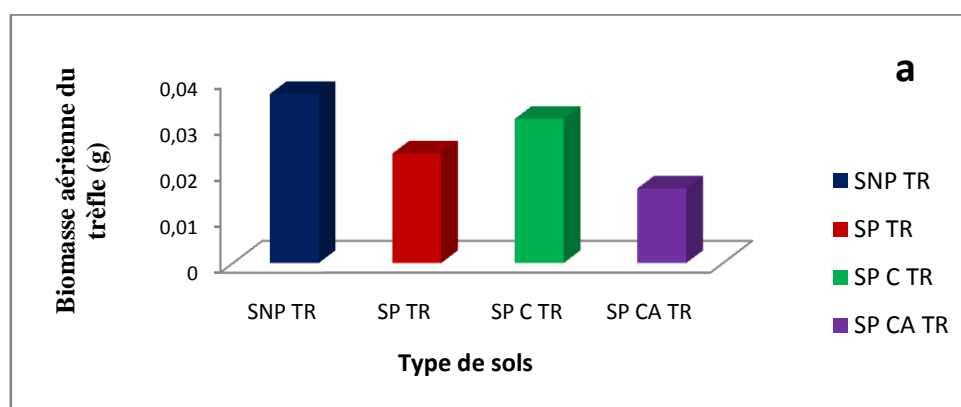
**Tableau 13 :** Groupes homogènes du nombre de feuilles du maïs pour le facteur sol déterminé par le test de Newman et Keuls

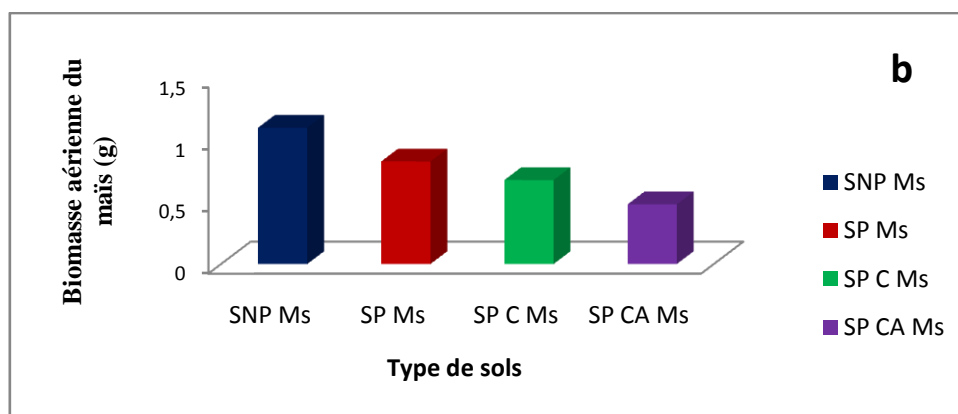
Sols	Moyennes	Groupes
S1 (SNP Ms)	44,50	A
S2 (SPD Ms)	41,50	AB
S3 (SPD C Ms)	38,50	BC
S4 (SPD CA Ms)	35,5	C

### 3.1.5 Biomasse aérienne des plantes

Les résultats portant sur la biomasse aérienne du trèfle montre que celle des plantes issus des échantillons de sol non pollué est de l'ordre de 0,03675g, plus élevée que celle des plantes des pots du sol pollué avec ou sans amendement (SP, SP C et SP CA) dont les valeurs sont respectivement : 0,0238 ; 0,03135 et 0,0162g.

D'après les résultats trouvés, la biomasse aérienne du maïs dans sol non pollué (SNP Ms) est la plus importante (1,1 g) par rapport à la biomasse aérienne du maïs cultivé sur les échantillons de sols pollué dilué amendés ou non par les différents substrats C et CA (SPD CA ; SPD C et SPD) et qui correspondent aux valeurs suivantes:0,48145 ; 0,67775 et 0,82795 g.





**Figure 10 :** Biomasse aérienne du trèfle (a) et du maïs (b) cultivée dans les différents types de sols pollués et non pollué.(Ms : maïs ; TR : trèfle ; SNP : sol non pollué ; SP : sol pollué ; SPD : sol pollué dilué ;C : substrat C ; CA : substrat CA).

L’analyse de la variance des résultats obtenus pour la biomasse aérienne du trèfle a montré qu’il n’y a pas une différence significative.

Donc il n’y a pas d’effet du facteur sol sur la biomasse aérienne de cette espèce.

**Tableau 14 :** Analyse de la variance de la biomasse aérienne du trèfle

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Sol	3	0.000482	0.000161	1.97722	0.259592
résiduelle	4	0.000325	0.00081		

L’analyse de la variance des résultats obtenus pour la biomasse aérienne du maïs a montré qu’il y avait une différence significative.

**Tableau 15 :** Analyse de la variance de la biomasse aérienne du maïs

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Sol	3	0.408033	0.0136011	11.1425	0.020637
Résiduelle	4	0.048826	0.012207		

Le test de Newman et Keuls a donné trois groupes homogènes pour le facteur sol. Le groupe A comprend le sol non pollué (SNP Ms) avec une moyenne de 1,1. Le groupe AB comprend le sol pollué dilué (SPD Ms) avec une moyenne de 0,82795. Le groupe B comprend

le sol pollué dilué amendé par le substrat C (SPD C Ms) et le sol pollué dilué amendé par le substrat CA (SPD CA Ms) avec des moyennes respectives de 0,67775 et 0,48145.

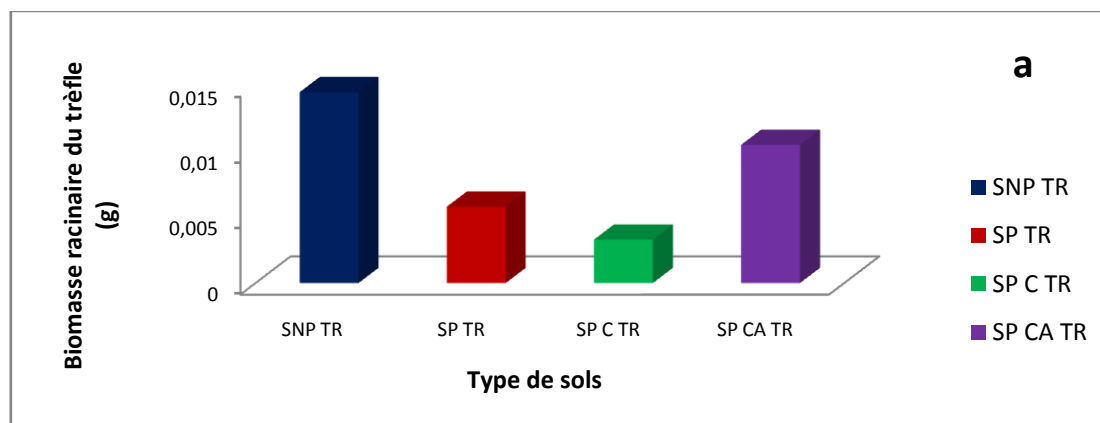
**Tableau 16** : Groupes homogènes de la biomasse aérienne du maïs pour le facteur sol déterminé par le test de Newman et Keuls.

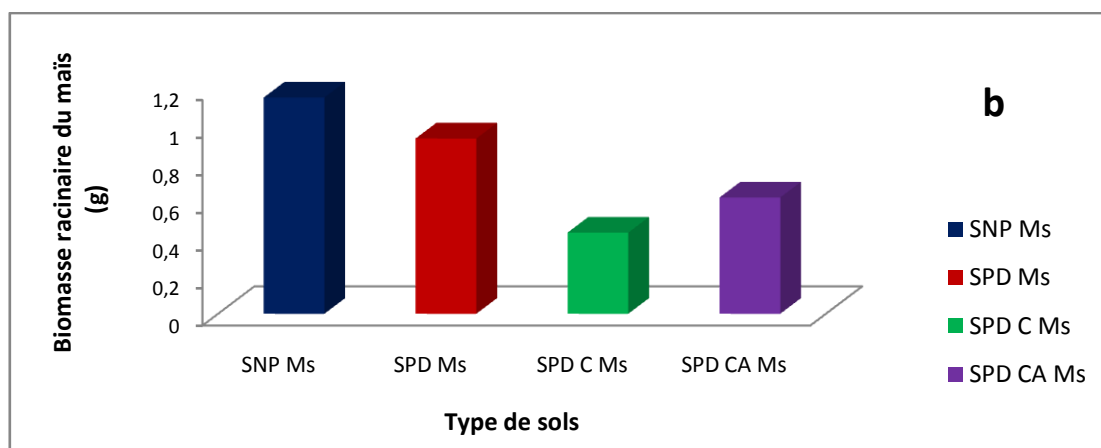
Sols	Moyennes	Groupes
S1 (SNP Ms)	1.1	A
S2 (SPD Ms)	0.82795	AB
S3 (SPD C Ms)	0.67775	B
S4 (SPD CA Ms)	0.48145	B

### 3.1.6 Biomasse racinaire des plantes

La biomasse racinaire du trèfle cultivée dans le sol non pollué est de 0,0145g alors qu'elle est plus faible pour celles des plantes des échantillons de sol pollué (SP CA TR, SP TR et SP C TR) et qui est respectivement de l'ordre de 0,0105 ; 0,0058 et 0,0033 g.

Concernant le maïs, il présente une biomasse racinaire d'une valeur de 0,15105 g dans le sol non pollué (SNP Ms) qui est plus élevée que celles des plantes recueillies sur les pots de sol pollué dilué (SPD Ms), de sol pollué dilué amendé par le substrat CA et par le substrat C (SP C Ms) et qui sont respectivement de l'ordre de 0,9332 g, 0,6189 g et 0,43215 g.





**Figure 11 :** Biomasse racinaire du trèfle (a) et du maïs (b) cultivée dans les différents types de sols pollués et non pollué.(Ms : maïs ; TR : trèfle ; SNP : sol non pollué ; SP : sol pollué ; SPD : sol pollué dilué ;C : substrat C ; CA : substrat CA).

L’analyse de la variance des résultats obtenus pour la biomasse racinaire du trèfle a montré qu’il y avait une différence hautement significative.

Donc il y a un effet du facteur sol sur la biomasse racinaire du trèfle.

**Tableau 17 :** Analyse de la variance de la biomasse racinaire du trèfle

Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Sol	3	0.00014866	4.9552e-05	17.889	0.00881**
Résiduelle	4	0.000001108	2.7700 e-06		

Le test de Newman et Keuls a révélé deux groupes homogènes. Le groupe A contient le sol non pollué (SNP TR) et le sol pollué amendé par le substrat CA (SP CA TR) avec des valeurs respectives de 0,0145 et 0,0105. Le groupe B contient le sol pollué (SP TR) et le sol pollué amendé par le substrat C (SP C TR) avec les deux moyennes respectives de 0,0058 et 0,0033.

**Tableau 18 :** Groupes homogènes de la biomasse racinaire du trèfle

Sols	Moyennes	Groupes
S1 (SNP TR)	0.0145	A
S4 (SP CA TR)	0.0105	A
S2 (SP TR)	0.0058	B
S3 (SP C TR)	0.0033	B

L’analyse de la variance des résultats obtenus pour la biomasse racinaire du maïs a montré qu’il n’y avait pas une différence significative.

Donc il n'y a pas d'effet du facteur sol sur la biomasse racinaire du maïs.

**Tableau 19** : Analyse de la variance de la biomasse racinaire du maïs

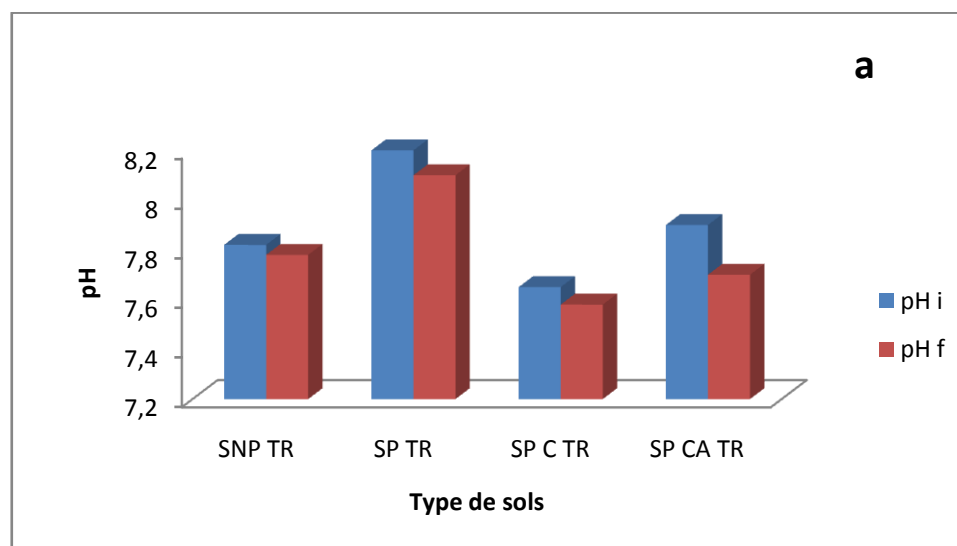
Source de variation	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Sol	3	0.616085	0.205362	1.91599	0.268506
Résiduelle	4	0.428733	0.107183		

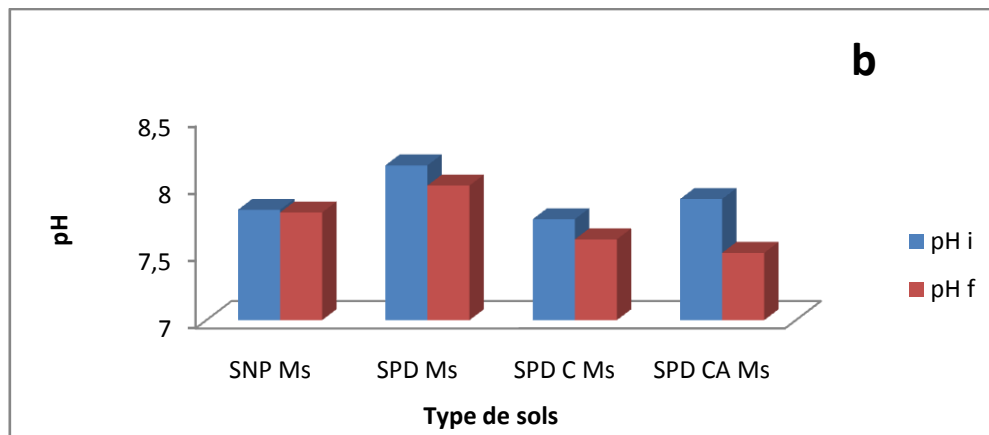
#### 4. Résultats de la mesure du pH

La figure 12, représente l'évolution du pH avant (pH i) et après traitement (pH f) des sols par la phytoremédiation.

D'après les résultats on remarque d'une part que l'ajout du substrat organique C et CA, en début de traitement, a induit une baisse du pH mais qui reste toujours alcalin (7,6 à 7,8).

D'autre part nous notons que le pH des échantillons de sol cultivés avec le trèfle et le maïs a tendance de diminuer d'une façon plus ou moins importante mais restant toujours plus élevé que 7 (pH allant de 7,4 à 8).





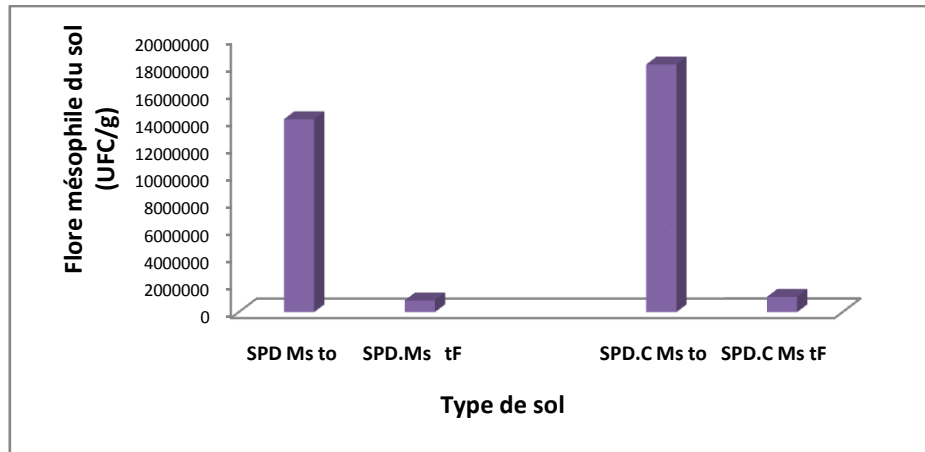
**Figure 12 :** Evolution du pH des sols cultivés par le trèfle (a) et du maïs (b) avant et après phytoremédiation. (Ms : maïs ; TR : trèfle ; SNP : sol non pollué ; SP : sol pollué ; SPD : sol pollué dilué ; C : substrat C ; CA : substrat CA).

### 5. Résultats du dénombrement de la flore mésophile

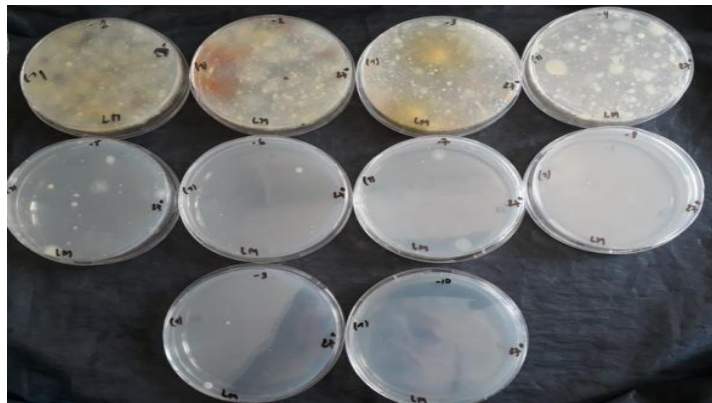
Les résultats du dénombrement de la microflore bactérienne et fongique sont respectivement  $4,6 \cdot 10^8$  UFC/g et 40 UFC/g pour le sol pollué ; aussi  $1,4 \cdot 10^8$  et 28 UFC/g pour le sol pollué dilué. Ceci montre que ces derniers sont riches en microorganismes ce qui laisse supposer qu'il pourrait y avoir une bonne dégradation des hydrocarbures.

La figure 25 ci-dessous illustre l'évolution de la flore bactérienne mésophile dans les échantillons de sol pollué dilué et le sol pollué dilué amendé par le substrat C dans lesquels nous avons semé le maïs. Nous remarquons en premier que l'ajout de substrat C a induit un enrichissement de la flore du sol pollué dilué en début d'expérimentation passant de  $1,4 \cdot 10^8$  à  $1,8 \cdot 10^8$  UFC/g de sol.

Ce pendant en fin de culture des plantes de maïs, nous remarquons une baisse de près de 93% de la flore bactérienne au niveau de ces échantillons de sol.



**Figure 13** : Présentation de l'évolution de la flore bactérienne dans les échantillons de sol cultivés par le maïs. (Ms : maïs ; SPD : sol pollué dilué ; SPD C : sol pollué dilué amendé par le substrat C ; t0 : initial ; tF : final).

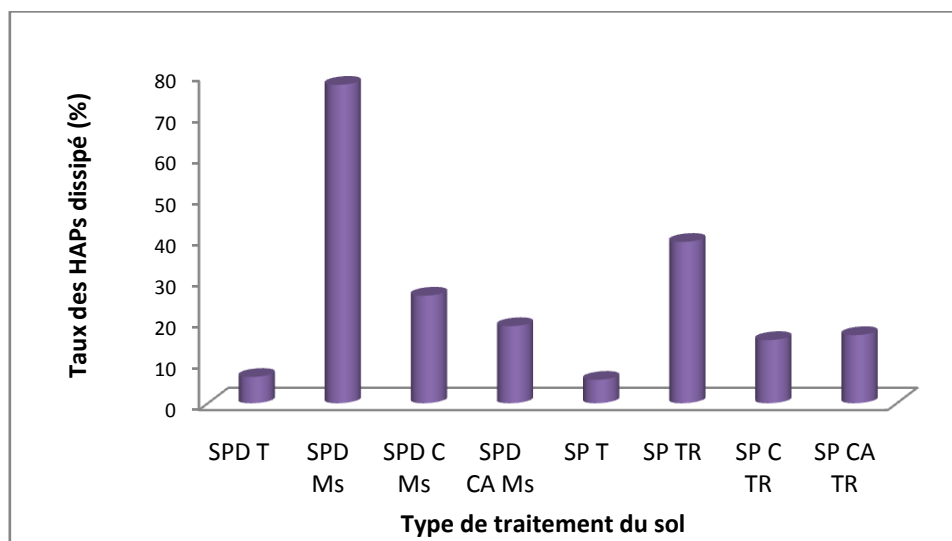


**Figure 14**: Photo des boîtes de pétri de dénombrement de la flore mésophile de sol pollué (photo originale, 2019).

## 6. Taux de dissipation des hydrocarbures des sols pollués

Les résultats de taux des hydrocarbures totaux dissipés du trèfle et du maïs représentés dans la figure 14ci dessous montre que les taux de dissipation des hydrocarbures dans les échantillons de sol non traités (témoin) étaient négligeables (moins de 10%) par rapport aux autres échantillons de sol ayant subi un traitement de phytoremédiation. Le meilleur rendement de dissipation a été obtenu au niveau des échantillons de sol cultivés par le maïs (77.43 %) suivi de ceux cultivé par le trèfle (39.23%).

Pour les sols amendés avec les substrats C et CA on a obtenu des taux plus faibles qui sont respectivement de l'ordre de 26,15 et 18,74 le % pour le maïs et 15,36 à 16,56 % pour le trèfle.



**Figure 15 :** Présentation du taux de dissipation des hydrocarbures totaux des sols pollués cultivés par le trèfle et le maïs. (Ms : maïs ; TR : Trèfle ; SP : sol pollué ; SP T: sol pollué témoin ; SPD : sol pollué dilué; SPD T : sol pollué dilué témoin; C : substrat C ; CA : substrat CA).

Concernant les analyses de la variance des résultats obtenus pour la comparaison des taux des HAP dissipé du trèfle et du maïs dans les sols pollués témoins, les autres sols pollués avec ou sans amendements.

Ces analyses ont montré qu'il n'y a pas une différence significative pour le sol pollué témoin, pollué et amendé avec substrats CA, avec des valeurs des (p- value= 0.1) pour les trois sols. Donc il n'y avait pas d'effet du facteur type du sol sur le taux des HAP dissipé pour les deux espèces trèfle et maïs.

Concernant l'analyse de la variance avec le test de student a deux échantillons indépendant, les résultats obtenus pour la comparaison des taux des HAP dissipé du trèfle et du maïs dans le sol pollué amendé avec le substrat C, l'analyse montre qu'il y avait une différence significative avec une valeur de (p-value=0,0002865), donc il y a un effet du facteur sol pollué amendé avec substrat sur le taux des HAP dissipé pour les deux espèces trèfle et maïs.

**II. Discussion**

Nous avons constaté que les valeurs de l'humidité trouvées des sols utilisés est faible  $\leq 7\%$ . Cette faible humidité peut être directement liée aux conditions climatiques du site de prélèvements et / ou à la texture du sol.

L'humidité est un paramètre important dans la croissance des plantes et le développement des microorganismes. Il est connu que les faibles humidités inférieures à 2% limitent la vitesse de biodégradation, inversement, des teneurs trop élevées vont influencer sur la perméabilité des sols aux gaz et générer des conditions de limitations de transfert d'oxygène et donc l'arrêt du métabolisme microbien aérobie (Perraud, 2004 *in* Belmenai, 2015).

L'eau joue un rôle essentiel dans tous les phénomènes physiques, chimiques et biologiques qui se produisent dans le sol. Elle pourra entrer en compétition avec les molécules organiques pour l'adsorption sur les matériaux solide, entraînant une baisse de l'adsorption des polluants lorsque le taux d'humidité du sol augmente. (Sahnoune, 2014).

Suite à la mesure du pH du sol non pollué (SNP), sol pollué (SP) et sol pollué dilué (SPD) il s'est avéré qu'ils étaient légèrement alcalins (entre 7,82 et 8,15) selon la classification de Soltner, (1981). Cette alcalinité peut être attribuée à la présence des carbonates.

D'après Kaouritchevet *al.*, (1980), ces échantillons de sol seront favorables à la culture des plantes. Benseghir, (1996) note qu'en dehors des limites de pH : 5 et 8, les plantes seront confrontées à des problèmes de nutrition minérale.

Cette valeur est dans la marge optimale et favorable à la biodégradation des hydrocarbures selon plusieurs auteurs, comme Lecomte (1994). Le pH recommandé pour une biodégradation optimale des hydrocarbures se situe entre 7 et 8 (pH proche de la neutralité) qui favoriserait la croissance des bactéries et des champignons (Leahy et Cotwell, 1990).

La conductivité électrique (CE) des sols détermine leur degré de salinité. Selon Baize (2000), lorsque la concentration saline de la solution aqueuse d'un sol est trop élevée, les racines se développent mal et la croissance de la plante est ralentie, aboutissant même dans les cas graves, au dépérissement des plantes.

Pour les sols contaminés et non pollué utilisés, les valeurs de la conductivité électrique sont comprises entre 175  $\mu\text{s}/\text{cm}$  et 300  $\mu\text{s}/\text{cm}$ . Selon l'échelle de salinité du sol (USSS, 1981), ces trois sols ne sont pas salés. Néanmoins elles révèlent une force ionique non négligeable. Ces valeurs indiquent une présence de sels solubles et un caractère minéral dans le sol (Dali et Iddir, 2018).

D'après Baize (1988), le sol non pollué présente des teneurs moyennes en carbone et en matière organique alors que notre échantillon de sol pollué est considéré comme sol riche vu qu'il renferme un taux élevé en matière organique (entre 4,5 et 5%). Ceci concorde avec les résultats de Nemer (2015) *in* Mekkerri (2017), qui ont constaté une teneur en matière organique très importante à la source de la pollution.

Les travaux de (Chaineau et *al.*, 1996), ont montré que la présence de déchets d'hydrocarbures dans le sol induit une augmentation immédiate du taux de carbone totale du sol. D'autre part, Ramade (1992) explique que la présence de matière organique peut être due à l'apport d'hydrocarbures qui sont des composés organiques.

La matière organique du sol est importante pour la fertilité des sols et la bonne productivité à long terme. Elle intervient dans l'amélioration de la structure du sol afin de faciliter le développement racinaire des plantes.

Selon Morel (1977), l'aptitude de sol à la minéralisation est en relation avec sa teneur en matière organique totale, plus elle sera riche plus sa minéralisation dans le sol sera intense.

Dans le sol, la plus grande partie de l'azote (outre celle provenant de l'engrais) est présente dans la matière organique. Cet azote devient disponible pour les végétaux par le processus de la minéralisation, par lequel la décomposition microbienne des matières organiques libère l'azote sous forme minérale.

L'azote est l'élément le plus déterminant de la valeur fertilisante des sols. L'insuffisance ou l'excès de l'azote peut affecter la croissance des plantes (un feuillage jaunissant, une végétation insuffisante, flétrissement nécrose racinaire, faible croissance, etc).

Le dosage des hydrocarbures totaux dans le sol pollué et le pollué dilué fait ressortir une teneur de 23,91g/Kg de sol pollué et 11,91 g/kg de sol pollué dilué. La teneur en hydrocarbures du sol pollué 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 la station d'essence est très pollué nécessitant un traitement adéquat.

Nous avons remarqué que malgré la bonne germination de l'espèce de la légumineuse testée (trèfle), la croissance ultérieure a été réduite de manière significative que celle de la graminée (maïs). Ceci nous permet de dire que le test de germination ne peut pas prédire la croissance ultérieure des plantes.

Cependant, Certaines études ont montré un lien entre une mauvaise germination et une faible croissance ultérieure dans le sol contaminé par des hydrocarbures (Chaineau et *al.*, 1997).

Suite aux expériences de phytoremédiation menées, nous avons constaté en premier une baisse de la vitesse de la levée des graines de maïs et du trèfle. Ceci a été déjà signalé par d'autres auteurs Nait massaoud, (2015) pour le maïs et Kessi, (2014) pour le trèfle.

D'après les résultats, on constate l'impact négatif de la présence des hydrocarbures sur la levée des plantes de maïs et du trèfle. Ceci a été déjà signalé par d'autres auteurs, Chaineau et *al.*, (1996).

La réduction du taux de levée dans le sol contaminé peut être due aux effets des hydrocarbures sur les propriétés du sol, qui vont se traduire par une inhibition ou une réduction de la germination des graines. Elle peut être due aussi à l'effet que ces substances peuvent exercer sur les réactions métaboliques se déroulant dans les graines.

Cependant on note que le pourcentage de levée des graines de maïs dans le sol pollué est meilleur que celui obtenu avec les graines du trèfle. Cela peut être dû à la capacité des graines du maïs à tolérer la pollution par les hydrocarbures plus que celles du trèfle. Chaineau et ses collaborateurs (1997), expliquent que les graines n'ont pas la même capacité de résistance à la contamination par les hydrocarbures, car ces derniers peuvent entrer dans les graines, empêcher les réactions métaboliques et tuer l'embryon par une toxicité aigüe directe.

En fin de l'expérimentation nous avons remarqué que le développement du système foliaire chez les plantes testées de maïs et trèfle étaient affecté par la présence de la pollution se traduisant par un nombre plus réduit de feuilles.

Nos résultats sont assimilables à ceux de Chibane (2013) ainsi que Belkadi et Issadi, (2014). Cette réduction peut être due aux propriétés du sol qui influent sur le développement du système foliaire. Selon Njoku et *al.*, (2009), la pollution du sol par le pétrole brut entraîne une faible infiltration de l'eau dans le sol, ce qui va affecter le développement des feuilles.

Cette réduction du nombre de feuilles peut être aussi due à la carence en éléments nutritifs notamment la carence en azote qui serait la conséquence de la diminution du nombre de nodosités dans les racines des plantes cultivées dans le sol contaminé. (Belkadi, 2014).

En plus de la baisse du nombre de feuilles des plantes de trèfle et de maïs, nous avons remarqué aussi un jaunissement d'une partie de celles-ci.

Heller, (1998) explique que la carence en azote ou faim d'azote se traduit non seulement par une végétation chétive mais aussi par une chlorose, c'est-à-dire un palissement des feuilles tirant sur le jaune, par suite de l'arrêt de la synthèse de la chlorophylle. De plus il peut y avoir apparition des pigments colorés et même la chute des feuilles.

Nous avons constaté un abaissement de la croissance de plantes (maïs et trèfle) cultivées sur les différents échantillons de sol pollué (SP, SPD) par rapport à ceux plantés sur un sol non pollué indique que la présence des hydrocarbures a affecté la vitesse de croissance des plantes testées. Ceci a été déjà observé dans d'autres travaux de Giddens (1975) ; Chaineau et *al.*,(2000) ; Chibane (2013) et Kessi (2014).

D'autre part, il a été noté que les plantes de trèfle ont connu un dépérissement rapide par rapport aux plantes de maïs. Ceci indique que les plantes de trèfle sont plus sensibles à la pollution par le carburant.

Duchauffour (1997) a noté que les hydrocarbures perturbaient la croissance des végétaux et leur phytotoxicité dépend de la dose, du type de molécules et de l'espèce végétale. Ces résultats peuvent être dus à l'effet des hydrocarbures sur la disponibilité des éléments nutritifs tel que rapporté par Giddens (1975). En effet, cet auteur a constaté que quelque soit la concentration en hydrocarbures, la croissance des plantes telles que l'orge et le maïs était réduite. Cette réduction serait due à un manque d'assimilation d'eau et d'éléments nutritifs et au changement des propriétés du sol.

Dans l'ensemble de nos expériences, nous avons remarqué que la présence des hydrocarbures a eu un impact négatif sur le développement des racines des plantes de trèfle et de maïs, ce qui a été déjà signalé dans des travaux antérieurs :Heller(1998), Oukaci et Lekadir (2014) ; Ammar et Nafil (2014) et Norini(2007).

Selon Norini (2007), la diminution de la croissance racinaire peut être due aux propriétés hydrophobes des hydrocarbures qui peuvent limiter l'effet bénéfique de l'association plante-micro-organismes qui est basée sur les flux de substances solubles. Cette atteinte des racines permet à la plante d'augmenter sa surface de contact avec le milieu de culture pour optimiser la nutrition minérale.

La biomasse aérienne et racinaire est un critère important de l'effet toxique des hydrocarbures au niveau des sols contaminés.

D'après les résultats de la biomasse végétale de trèfle et du maïs, nous avons remarqué qu'il y avait un effet toxique sur la biomasse aérienne et sur la biomasse racinaire de ces deux plantes.

Nos résultats concernant la biomasse aérienne concordent avec ceux obtenus par Chibane(2013) ;Kessi (2014) ;Ammar et Nafil (2014) et Oukaci Lekadir (2014)qui ont constaté une diminution de la biomasse aérienne sous l'influence des hydrocarbures.

Cependant ces résultats diffèrent de ceux obtenus par Ogboet *al.*, (2009) et Nait Abdelaziz, (2014) qui ont trouvé que la contamination du sol par le pétrole brut n'affectait pas la biomasse végétale.

Morot (1997) a noté que la nutrition azotée limitait généralement la croissance, le développement et le rendement du végétal. Cette réduction de la biomasse végétale nous laisse penser aussi au sol qui est la source d'une grande partie des éléments nécessaires au développement des végétaux, le changement de ses propriétés (changement de la teneur en humidité, en pH et en matière organique) influence la croissance végétale.

D'après Kyung-Hwa et *al.*, (2004), les symptômes les plus communs et les plus importants observés sur les plantes contaminées avec de l'huile et ses produits dérivés comprennent la dégradation de la chlorophylle, des altérations du mécanisme stomatique, une réduction de la photosynthèse et de la respiration, et la diminution de la biomasse.

Dans notre expérience, nous avons constaté que les racines des plantes cultivées dans les sols pollués ont subi un stress qui s'est traduit par la réduction du diamètre des racines notamment pour le maïs.

La réduction de la biomasse racinaire constatée chez nos plantes cultivées sur sol pollué a été aussi relevée par d'autres auteurs avec différentes plantes, Shahriariet *al.*,(2007) ; Chibane (2013) ;Oukaci et Lekadir(2014) ; Ammar et Nafil (2014).

Norini, (2007) note que la diminution de la croissance racinaire peut être due aux propriétés hydrophobes des hydrocarbures qui peuvent limiter l'effet bénéfique de l'association plante-microorganisme. Cette atteinte des racines ne permet pas à la plante d'augmenter sa surface de contact avec son milieu de culture pour optimiser sa nutrition.

L'asphyxie des plantes peut être dû d'une part à de la réduction de la teneur en oxygène, qui est nécessaire dans la fixation d'azote (Heller et *al.*,1998), au niveau des pores du sol qui sont occupés par les hydrocarbures. D'autre part, l'asphyxie peut être causée par l'augmentation de la teneur en eau dans les pores du sol réduisant l'air du sol suite à la difficulté de l'évapotranspiration en présence des hydrocarbures qui sont des huiles visqueuses.

Dans nos échantillons de sol pollué, nous avons remarqué la présence d'une flore (bactéries et champignons) importante.

Lors du processus de phytoremédiation avec le maïs, nous avons remarqué la baisse de la flore bactérienne qui serait dû soit à la baisse du pH ou à la réduction des nutriments suite à la croissance des plantes qui entrent en concurrence avec les microorganismes.

Les bactéries utilisent le pétrole comme source de carbone ce qui peut également expliquer leurs proliférations dans le sol contaminé par rapport au sol non contaminé. L'évolution de la biomasse microbienne dans les sols pollués par les hydrocarbures est le résultat de l'adaptation des bactéries aux conditions extrêmes, et l'utilisation de xénobiotiques comme source de carbone et d'énergie. Ceci a été observé aussi par Selmoun (2016).

Selon Tanee et Kinako (2008), les hydrocarbures ont une forte teneur en carbone et les microorganismes utilisent ou immobilisent les éléments nutritifs disponibles (N et P) dans le sol pour dégrader ces derniers, et créent des carences en nutriments dans les sols contaminés.

Des valeurs extrêmes de pH pourraient avoir une influence négative sur la capacité des microorganismes à dégrader les hydrocarbures. La croissance des bactéries hétérotrophes et des champignons étant favorisée par un pH proche de la neutralité (Leahy et Colwell, 1990).

L'analyse de l'évolution du pH des sols pollués et non pollués cultivés avec le trèfle et le maïs, montre que ce dernier a tendance de diminuer dans les sols pollués cultivés par les deux plantes.

D'après Njuko et *al.*, (2009), la diminution du pH est due à la dégradation des hydrocarbures, elle pourrait être dû à l'accumulation des acides organiques produits lors de la dégradation dans le sol. Par contre Berge et *al.*, (1986) note que la diminution est due soit à l'oxydation des n-alcanes, soit à celle des composés prévenant de la rupture de noyaux aromatique.

La baisse du pH peut être aussi due à la présence de culture des plantes. Selon les travaux de Betencourt (2012) et Bergagli (1998) *in* Chaib (2013), les légumineuses sont distinguées par leurs capacités de diminuer le pH dans leurs rhizosphères, du fait de leurs faible prélèvement d'anions lors de la fixation de N<sub>2</sub>, et leurs racines peuvent ainsi libérer des sécrétions, des cellules mortes, etc. dans leurs entourages, ce qui a pour effet de changer le potentiel redox et de faire baisser le pH.

En termes de rendement de dissipation des hydrocarbures totaux nous avons obtenu un meilleur taux avec le maïs.

Le trèfle a présenté un bon taux de germination dans le sol pollué de la station de service mais au cours de la culture ce dernier a eu une faible croissance alors que la croissance du

maïs a été meilleure. Ceci nous amène à penser qu'une bonne germination n'est pas toujours suivie d'une bonne croissance comme cela a été révélée par d'autres auteurs.

La dégradation des hydrocarbures dans le sol contaminé peut se faire selon l'un des nombreux mécanismes de phytoremédiation qui comprennent : la phytodégradation, la phytovolatilization, la phytotransformation, (Gao et Zhu, 2005).

Un meilleur rendement de dissipation des hydrocarbures a été obtenu par le maïs qui a montré une meilleure croissance et un système racinaire très développé dans le sol pollué que le trèfle.

Selon Vila (2006), les plantes ayant un système racinaire large et dense sont privilégiées car elles ont une plus grande capacité d'absorption et elles explorent une zone plus vaste dans le sol.

Selon Schnooret *al.*, (2003), plus les racines sont abondantes plus elles fournissent une surface de développement importante pour la microfaune et la microflore rhizosphérique. Les exsudats racinaires peuvent avoir un rôle dans l'amélioration directe de la dégradation des hydrocarbures via la sécrétion de diverses enzymes extracellulaires (Martin et *al.*, 2013 in Belhocine, 2016).

La présence d'une microflore diversifiée en bactéries et en mycorhizes au niveau de la rhizosphère est essentielle et assure la dégradation efficace des composés organiques contenus dans le sol, incluant les contaminants organiques. Ces micro-organismes agissent en augmentant la mobilité et en dégradant la fraction peu soluble des contaminants ce qui améliore la disponibilité de ces composés en les rendant plus assimilables pour la plante (Jordahl et *al.*, 1997; Tesar et *al.*, 2002; Vangronsveld et *al.*, 2009). L'interaction entre la plante et les micro-organismes est considérée comme une relation de symbiose, où les deux parties retirent divers avantages.

Nos résultats ont révélé aussi que l'ajout de substrat organique n'a pas amélioré le rendement de dissipation et il a été remarqué une baisse de la croissance des plantes qui serait dû à un excès de l'azote et de phosphore.

Il en résulte que la qualité de ces amendements est à prendre impérativement en compte pour obtenir les résultats souhaités.

Les différences dans la phytotoxicité des HAP constatées sur la croissance des plantes seraient dues à la variation des conditions expérimentales utilisées (HAPvolatiles ; l'âge de la pollution du sol, des systèmes fermés ou ouverts) qui influent la disponibilité HAP et les pertes volatiles.

Notre travail avait pour but principal l'application de la phytoremédiation afin de réhabiliter un sol pollué par le carburant (gasoil) d'une station-service située au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou.

Nous avons mené un test de germination avec plusieurs espèces végétales qui a abouti à la sélection de deux espèces : une graminée (le maïs) et une légumineuse (le trèfle). Néanmoins il y a lieu de signaler que le maïs a donné un meilleur taux (100%) sur du sol pollué amendé avec du sol non pollué à 20%.

Lors des essais de phytoremédiation, il a été observé en premier l'impact négatif de la pollution par le carburant sur la croissance de nos plantes testées. Ceci s'est traduit par la baisse de la vitesse de levée des graines, de la hauteur des plantes, de longueur des racines et la biomasse végétale. Ces constatations ont été déjà relevées par d'autres auteurs dans des travaux antécédents sur ces plantes ainsi que d'autres.

En termes de rendement de dissipation du polluant (gasoil) nous avons eu un meilleur taux dans les sols traités (cultivés par les plantes) et qui est important dans le cas des échantillons de sol cultivés par le maïs.

Au vu de ces résultats, nous pouvons dire que cet essai de phytoremédiation par le maïs a été satisfaisant et a confirmé les bons résultats obtenus antérieurement avec cette espèce. Le maïs peut donc être utilisé dans la décontamination du sol pollué par les carburants de la station service.

Il y a lieu de signaler que nos essais d'amélioration de la croissance des plantes par l'ajout de substrats organiques aux échantillons de sol pollué n'ont pas donné les résultats escomptés.

Enfin, nous proposons quelques perspectives à savoir :

- La réalisation d'une étude approfondie sur les microorganismes de la rhizosphère pour comprendre les mécanismes de dégradation qui s'y déroulent.
- L'extraction des hydrocarbures à partir des plantes pour élucider les mécanismes par lesquels ces plantes décontaminent le sol.

**ALKORTA, I et GARBISU, C. 2001.** Phytoremediation of organic contaminants in soils. *Bioresour. Technol., Reviews Issue 79*, 273–276. doi:10.1016/S0960-8524(01)00016-5.

**AMMAR, O et NAFIL K., 2014.** Effet des carburants (essence normale, essence super et gasoil) sur la croissance de la fève (*Vicia faba* L) et sur la production des polyphénols. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 30p.

**BALLERINI, D et VANDECASTEELE, J.P. 1999.** La restauration par voie microbiologique des sols contaminés par les polluants organiques: Biotechnologie, coordonateur R. Scriban, 5ème édition, Edition Tech et Doc. P : 835- 865.

**BARRIUSO, E., CALVET, R., SCHIAVON, M., et SOULAS, G. 1996.** Les pesticides et les polluants organiques des sols. *Etude et gestion des sols. Vol. 3. N° 4.* P : 279-296.

**BELKADI, A et ISSAD, S. 2014.** Effet des hydrocarbures sur le rendement végétal de la luzerne (*Medicago sativa* L.). Mémoire de Master. UMMTO. 45p.

**BENFARDIA, H et CHENINE, A. 2014.** Effets de la nature du sol sur l'efficacité d'un dispositif de biodépollution à l'aide des bactéries hydrocarboruclastes. Mémoire de master académique en Microbiologie appliquée. Université Kasdi Merbah Ouargla. p15.

**BERTRAND, J. C et MILLE G. 1989.** Devenir de la matière organique exogène. Un modèle : les hydrocarbures. *In* Bianchi, M., Marty, D., Bertrand, J.C., Caumette, P. et Gauthier, M.J. (Eds.), *Microorganismes dans les écosystèmes océaniques*. Masson (Paris), Chapitre 13, p : 343-385.

**BOCARD, C. 2006.** Marées noires et sols pollués par des hydrocarbures. Enjeux environnementaux et traitement des pollutions. Edition Technip. Paris. 297p.

**BOOPATHY, R. 2000.** Factors limiting bioremediation technologies. *Biores. Technol.* p 74, 63-67.

**BOURKACHE, R et BOUSSENOU, N. (2015).** Essai de phytoremédiation in-situ et ex-situ d'un sol pollué par les hydrocarbures. Cas des stations services. Mémoire de Magister. UMMTO. 39 p.

## Références bibliographiques

---

**CERNIGLIA, C.E. 1992.** Biodégradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Biodégradation . p3, 351-368.

**CHAINEAU, C.H., MORE J.L, et OUDOT, J. 1996.** Land treatment of oil-Based drill cuttings in an agricultural soil. J. Environ qual. v 25, p : 858-867.

**CHAINEAU, C.H., MOREL, J.L. et OUDOT, J. 2000.** Biodegradation of fuel oil Hydrocarbons in the rhizosphere of maize. Journal of Environmental Quality. Vol. 29. P : 568-578.

**CHIBANE, G. 2013.**Caractérisation des hydrocarbures extraits de sols dépollués par la technique de phytoremédiation. Thèse de magister en biologie. UMMTO .pp 72.

**CHIOU, C.T., SHENG, G et MANES, M. 2001.** A partition-limited model for the plant uptake of organic contaminants from soil and water. Environ. Sci.Technol. 35, 1437–1444.

**CHOCAT, B. 2004.** Pollution par les hydrocarbures dans les eaux de ruissellement et traitabilité : Solution existante, 1ere édition Tec et Doc Lavoisier.Pp289-290.

**COLIN, F. 2000.** Pollution localisée des sols et des sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés, Académie des sciences, rapport n° 44, Editions Tec&Doc, P 417.

**CRONE, M. 2000.** Diagnostic de sols pollutes par des hydrocarbures aromatique polycyclique (HAP) a l'aide de spectrofotometrie UV .Thèse de doctorat de l'institut national des sciences Lyon .p : 169-173.

**CRONQUIST, A. 1981.** An integrated system of classification of flowing plants. New York universitypress. *In* Kessi, 2014. Contribution à la phytoremédiation de sol des borbiers de Hassi Massaoud. Mémoire de Master. UMMTO. 45p.

**CUNNINGHAM, S.D., BERTI, WR et HUANG, JW. 1995.** Phytoremédiation of contaminated soils. Trends Biotechnol 13. P : 393-397.

**CUNNINGHAM, S.D., ANDERSON, T.A., SCHWAB, A.P et HSU, F.C. 1996.** Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. Adv. Agron. 56, p : 55–114.

## Références bibliographiques

---

**DALI, M et IDDIR ,O. 2018.** Etude physico-chimique et microbiologique d'un sol pollué par les hydrocarbures avant et après traitement par phytoremédiation. Master en biologie. UMMTO. p 34.

**DELAGE, P et SCHREFLER, B. 2005.** Géomécanique environnementale : sols pollués et déchets. Lavoisier. p 249.

**DUCHAUFOR, P. 2004.** Introduction à la science du sol : végétation, environnement .2e cycle 6eme édition. Ecoles d'ingénieurs. CAPES : Ed DUNOD, p 331.

**EDWRDS, N. 1983.** Polycyclicaromatic hydrocarbons (PHAs) in the terrestrial environment. Canada ; 1998, p : 105a–124a.

**FISMES, J., PERRIN-GANIER, C., EMPEREUR-BISSONNET, P et MOREL, J.L. 2002.** Soil-to-Root Transfer and Translocation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Vegetables Grown on Industrial Contaminated Soils. J. Environ. Qual. 31, 1649–1656. doi:10.2134/jeq2002.1649.

**FRICK, C.M., GERMIDA, J.J et FARRELL, R.E. 1999.** Assessment of phytoremediation as an in-situ technique for cleaning oil-contaminated sites, in: Technical Seminar on Chemical Spills. Environment Canada; 1998, p : 105a–124a.

**GABET, S. 2004.** Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Thèse de doctorat de l'université de Limoges, spécialité Chimie et Microbiologie de l'Eau. p. 177.

**GAN, S., LAU, E.V et NG, H.K. 2009.** Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). J. Hazard. Mater. 172, 532549. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.07.118

**GAO, Y., YU, X.Z., WU, S.C., CHEUNG, K.C., TAM, N.F.Y., QIAN, P.Y et WONG, M.H. 2006.** Interactions of rice (*Oryza sativa* L.) and PAH-degrading bacteria (*Acinetobacter* sp.) on enhanced dissipation of spiked phenanthrene and pyrene in waterlogged soil. Sci. Total Environ. 372, 1–11. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.09.029

## Références bibliographiques

---

**GASKIN, S. 2008.** Rhizoremediation of hydrocarbon contaminated soil using Australian native grasses (Electronic Thesis or Dissertation). Flinders University, Australia.

**GERHARDT, K.E., HUANG, X.-D., GLICK, B.R et GREENBERG, B.M. 2009.** Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. *Plant Sci.* 176, 20–30. doi:10.1016/j.plantsci.2008.09.014.

**HARITASH A.K et KAUSHIK C.P. 2009.** Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *J. Hazard. Mater.* P : 169, 1-15.

**HELLER, R., ESNAULT, R et LANCE, C. 2000.** *Physiologie végétale : Développement.* Ed. Dunod. Paris. P 580.

**HENIN, S., GRAS, R et MONNIER. 1969.** Le profil cultural, l'état physique du sol et ses - conséquences agronomiques. Masson, Paris. p332.

**HENNER, P. 2000.** Phytoremédiation appliquée au traitement de sols contaminés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Thèse de doctorat , Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaire Phytoremédiation. Institut National Polytechnique, Lorraine, 192 p.

**IWAMOTO, T et NASU, M. 2001.** Current bioremediation practice and perspective. *J. Biosci. Bioeng.* 92, 1–8. doi:10.1016/S1389-1723(01)80190-0.

**JORDAHL, JL., FOSTER, L., SCHNOOR JL et ALVAREZ, PJJ. 1997.** Effect of hybrid poplar trees on microbial populations important to hazardous waste bioremediation. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16:1318–1321.

**KANAN, R . 2012.** Développements méthodologiques pour l'extraction et l'analyse des polluants organiques d'intérêt pour l'environnement marin :Application aux hydrocarbures aromatiques polycycliques .Thèse de doctorat de l'université bordeaux 1. p203-210.

**KESSI, L. 2014.** Contribution a la phytoremédiation de sol des borbiers de Hassi Massaoud. Mémoire de Master. UMMTO. p45.

**KOLLER, E. 2009.** Traitement des pollutions industrielles eau. Air. Déchets. Sols. Boues : 2<sup>ème</sup> édition, Edt Dunod, Paris. p569.

**KUIPER, I., LAGENDIJK, E.L., BLOEMBERG, G.V et LUGTENBERG, BJJ. 2004.** Rhizoremediation: A Beneficial Plant-Microbe Interaction. *Mol. Plant. Microbe Interact.* 17, 6–15. doi:10.1094/MPMI.2004.17.1.6l'identificationbiochimique des bactéries. Ed Doin, Paris.

**KYUNG-HWA, B., HEE-SIK, K., HEE-MOCK, O., BYUNG-DAE, Y., JAISOO, K., IN-SOOK, L. 2004.** Effects of crude oil, oil components, and bioremediation on plant growth. Department of life science, korea research institute of biotechnology and bioscience, journal of environmental science and health. vol: a39, no. 9. P : 2465–2472.

**LEAHY, J. G et COLWELL, RR. 1990.** Microbial Degradation of hydrocarbons in the Environment. *Microbiol. Rev.*, 54: 305-315.

**LECOMTE, P. 1995.** Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines. Edition lavoisier, tec et doc. p198.

**LOCOMTE, P. 1998.** Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines 2<sup>ème</sup> édition Lavoisier TEC &DOC. p204.

**MAZZIOTTI, M. 2017.** Impacte des exsudats racinaire de miscanthus X gigantes sur les microorganismes impliqués dans la bioremediation d'un sol contaminé au benzo (a) anthracene "Ecotoxicologie,Biodiversité,Ecosystème , Université de Lorraine: Id HAL, p302 .

**MEKERRI, K et TAZEBOUDJT, A. 2017.** Effet de deux espèces de légumineuses (Fève et Haricot) sur les propriétés physico-chimiques et biologiques de sols contaminés par le pétrole brut. Mémoire de Master. UMMTO. p52

**MENZIE, CA., POTOCKI, BB et SANTODONATO J. 1992.** Exposure to carcinogenic PAHs in the environment .*Environ .Sci. Technol.* p26. (7) 1278-1284.

## Références bibliographiques

---

**MOHAN, S.V., KISA, T., OHKUMA, T., KANALY, R.A et SHIMIZU, Y. 2006.** Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 5, 347–374. doi:10.1007/s11157-006-0004-1

**MOROT-G. J-F. 1997.** Assimilation de l'azote chez les plantes. Edition : INRA, Paris, 1997, pp 75-90. In MAMMERI, D., MOUSSAOUI, T., 2015. Effet des carburants (essence, gasoil) sur la croissance de la nodulation de la fève (*Vicia faba L.*), pois (*Pisum sativum L.*) et la luzerne (*Médicago sativa L.*) Mémoire de Master en biologie, UMMTO. p 53.

**NAIT ABDELAZIZ, B. 2014.** Evaluation de la toxicité de différents carburants vis-à-vis de quelques légumineuses. Mémoire de Magister. UMMTO. p81.

**NAIT MASSAOUD, T et SAMER, Z. 2015.** Essai de phytoremédiation d'un sol pollué aux carburants et valorisation des plantes par production de biocarburants. Mémoire de Master. UMMTO. p41.

**NEWMAN, L.A et REYNOLDS, C.M. 2004.** Phytodegradation of organic compounds. *Curr. Opin. Biotechnol.* 15, 225–230. doi:10.1016/j.copbio.2004.04.006

**NYABYENDA, P. 2005.** Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitudes d'Afrique. Edition les presses agronomiques de Gembloux. 465 p.

**OGBO, E. M., ZIBIGHA, M et ODOGU, G. 2009.** The effect of crude oil on growth of the weed (*Paspalum scrobiculatum L.*) phytoremediation potential of the plant. *Afr.J. Env. Sci. Technol.*, 3 (9), 229-233.

**PAULINE, W., KABORE-OUEDRAOGO., PAUL, W., SAVADOGO., CHEIK, A. T. OUATTARA, ALY SAVADOGO et ALFRED S.TRAORE. 2010.** Etude de la biodepollution de sols contaminés par le Hydrocarbures au Burkina Faso. Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA). p8.

**PILON-SMITS, E. 2005.** Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology.* Poincaré. Nancy 1, France. p 56. 15-39.

**QIU, J.W., QIAN, P.Y. et WANG, W.X. 2001.** Contribution of dietary bacteria to metal accumulation in the slipper limpet. *Aquatic Microbial Ecology* : 25.p151-161.

**SAHNOUNE, R. 2014.** Analyse et caractérisation physicochimique des sols d'Entreposage de la station de pétrole (Bejaia). Mémoire de Master mines et géologie. Université de Bejaia. 57p.

**SCHNOOR. 2003.** phytoremediation-transformation and control of contaminants. 987p

**SCRIBAN, R. 1999.** Biotechnologie : restauration par voie biologique des sols contaminés par la polluante organique 5ème édition. Ed lavoisi.

**SELMOUN, M et BENKHEBICHE, DJ. 2016.** Contribution à l'étude de la biodégradation des hydrocarbures dans les boues de forage par des bactéries productrices de biosurfactants. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine, 77 p.

**SHIRDAM, R., ZAND, A., BIDHENDI, G et MAHRDADI, N. 2008.** Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils with emphasis in the effect of petroleum hydrocarbons in the growth of plant species, article. Vol:89 (Number 1), 89 p.

**SILVA, I.S., GROSSMAN, M et DURRANT, L.R. 2009.** Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (2–7 rings) under microaerobic and very-low-oxygen conditions by soil fungi. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 63, 224–229. doi:10.1016/j.ibiod.2008.09.008  
soils, *Journal of environmental sciences*, vol.17, No 1: 14-18.

**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 de l'université Paris 6, spécialité chimie analytique. p284.

**SOLTNER, D. 1990.** Les grades productions végétales.17ème édition .Edition science et techniques agricoles. p : 325-353.

**SOLTNER, D. 2011.** Les bases de la production végétale (éd. Tome I-le sol et son amélioration. 25ème Edition. Collection science et technique agricole. 472 p.

**SU, Y.-H et ZHU, Y.-G. 2008.** Uptake of selected PAHs from contaminated soils by rice seedlings (*Oryza sativa*) and influence of rhizosphere on PAH distribution. *Environ. Pollut.* 155, 359–365. doi:10.1016/j.envpol.2007.11.008.

**SUSARLA, S., MEDINA, V.F et MCCUTCHEON, S.C. 2002.** Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. *Ecol. Eng.* 18, 647–658. doi:10.1016/S0925-8574(02)00026-5.

**TANEE, F. B. G et 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.* Vol. 12(2) 143 – 147.

**TECHER, D. 2011.** Réhabilitation de sols pollués par des HAP grâce aux bactéries associées à la rhizosphère de *Miscanthus x giganteus*. Thèse du doctorat. Université Paul Verlaine de Metz. 314p.

**TESAR, M., REICHENAUER, TG., SESSITSCH, A. 2002.** Bacterial rhizosphere populations of black poplar and herbal plants to be used for phytoremediation of diesel fuel. *Soil Biology and Biochemistry* 34:1883–1892.

**THIELE, S et Brümmer, G. W. 2002.** Bioformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil under oxygen deficient conditions. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 34. N° 5. pp: 733-735.

**VANGRONSVELD, J., HERZIG ,R et WEYENS ,N. 2009.** Phytoremediation of contaminated soils and groundwater : lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research* 16(7), 765-794. in Grenier vanessa, (2014).

**VILA, M. 2006.** Utilisation de plantes agronomiques et lacustres dans la dépollution des sols contaminés par le RDX et le TNT . *Approche en laboratoire* : 02 : 4-6.

**WATTS, A.W., BALLESTERO, T.P et GARDNER, K.H. 2006.** Uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in salt marsh plants *Spartina alterniflora* grown in contaminated sediments. *Chemosphere* 62, 1253–1260. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.07.006

## Références bibliographiques

---

**WILCKE, W. 2000.** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in soils – a review, J. Plant Nutr. Soil Sci.p163, 229-248.

**WILCKE, W. 2007.** Global patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil. Geoderma.Vol. 141. N° 3-4. pp: 157-166.

**WONG, MH. 2003.** Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. Chemosphere 50. P : 775-780.

**ZHOU, X. 2010.** Etude expérimentale de quelques parametres affectant la dissipation des hydrocarbures aromatique polycyclique (HAP)dans la rhizosphère de plantes mycorhizées.Thèse de doctorat de l'université Henri Poincaré, Nancy I.p156-163.

### Annexes 1 :

Le pH: Soltner (1981)

Extrêmement acides	Très fortement acides	Très acides	Acides	Faiblement acides	Neutres	Alcalins	Très alcalins
3 -4,5	4,5 –5	5 -5,5	5,5 –6	6-6,75	6,75 – 7,25	7,25 – 8,5	8,5

Matière organique : Soltner (1981)

Extrêmement faible	Très faible	Faible	Moyen	Moyennement élevé	Elevé	Très élevé
<1	1-1.5	1.5-2.5	2.5-3.5	3.5-4.5	4.5-5	>5

Conductivité électrique

Non salé	Peu salé	salé	Très salés
0-0.6	0.6-1.4	1.4-2.4	2.4-6

**Résumé :**

L'un des principaux problèmes environnementaux en Algérie est la contamination du sol par les hydrocarbures résultant des activités liées à l'industrie pétrochimique. Ce travail a pour objectif de tester la possibilité de réhabilitation d'un sol pollué par le carburant (gasoil) d'une station-service située au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou, par l'application de la phytoremédiation avec des espèces végétales à savoir le trèfle et le maïs. A la suite des essais de phytoremédiation, il a été observé que la pollution du sol par le carburant a eu un impact négatif sur la croissance des plantes testées se traduisant par la baisse de la vitesse de levée des graines, de la hauteur des plantes, de la longueur des racines et de la biomasse végétale. Il a été aussi remarqué que le maïs a été l'espèce la plus résistante à la toxicité des hydrocarbures comparativement au trèfle. En termes de rendement de dissipation des hydrocarbures (gasoil) du sol, il a été obtenu un meilleur taux avec les cultures de maïs par rapport à celles de trèfle. Au vu des résultats obtenus, nous pouvons dire que la phytoremédiation par le maïs peut être utilisée dans la décontamination du sol pollué par les carburants de la station service.

**Mots clés :** phytoremédiation, hydrocarbure, pollution du sol.

**Abstract :**

One of the main environmental problems in Algeria is the contamination of the soil by hydrocarbons resulting from activities related to the petrochemical industry. The objective of this work is to test the possibility of rehabilitating soil polluted by fuel (diesel) from a service station located at the level of the wilaya of Tizi-Ouzou, by applying phytoremediation with plant species, namely clover and corn. Following phytoremediation tests, it was observed that the pollution of the soil by fuel had a negative impact on the growth of the plants tested, resulting in a decrease in the rate of seed emergence, the height of the plants, length of roots and plant biomass. It was also noted that corn was the most resistant to oil toxicity compared to clover. In terms of the dissipation yield of hydrocarbons (diesel) from the soil, a better rate was obtained with corn crops compared to those of clover. In view of the results obtained, we can say that phytoremediation by corn can be used in the decontamination of soil polluted by fuels from the service station.

**Key words :** phytoremediation, hydrocarbon, soil pollution.