



Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Facultés des Sciences Biologiques et des Science Agronomique
Département De Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Spécialité: protection de l'environnement

Thème

**Comparaison de l'efficacité de quelques
techniques biologiques de décontamination d'un
sol pollué aux hydrocarbures**

Présenté par :

M^{elle} KABRI Rabiha

M^{elle} TAIBI Hayat

Soutenu le 21/07/2016 devant le jury :

Présidente : **M^{me} SADOUDI D.**

Professeur à l'UMMTO

Promotrice : **M^{me} ALI AHMED S.**

M.A.A à l'UMMTO

Examinaterices : **M^{me} DAOUDI H.**

M.A.A à l'UMMTO

M^{me} LAMRI T.

M.A.A à l'UMMTO

Remerciements

Tous d'abord nous adressons nos vifs remerciements et notre gratitude à notre encadreur *M^{me} ALI AHMED*, Maître assistante au département de biologie à l'UMMTO, de nous avoir encadrées et orientées tout au long de ce travail et aussi pour ses critiques, son aide, ses encouragements et ses précieux conseils que nous avons eu durant tout le travail.

Nous tenons à remercier profondément les membres du jury :

-la présidente *M^{me} SADOUDI* pour le plaisir qu'elle nous fait en acceptant de présider notre jury de soutenance.

- les examinatrices : *M^{me} DAOUDI* et *M^{me} LAMRI* qui ont bien voulu examiner ce travail, malgré leurs nombreuses occupations.

Nous ne manquons surtout pas de remercier chaleureusement tous les membres ainsi que l'ensemble des techniciens et ingénieurs du laboratoire commun et laboratoire de pédologie de la faculté des sciences biologiques et sciences agronomique pour leur soutien et leur contribution à la réalisation de ce travail. Nous remercions également *M^r ANARIS*, ingénieur au laboratoire de Génie Civil pour son aide précieuse lors de la réalisation de ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à *M^r AIT BEN AMARA Y.*, propriétaire de la station-service *AIT BEN AMARA* de Boukhalfa, pour nous avoir facilité l'accès au terrain afin de réaliser notre essai.

Nous voulons aussi témoigner notre reconnaissance et exprimer toute notre gratitude à nos enseignants qui ont participé pour une grande part à notre formation.

Un grand merci à nos familles, pour leur soutien constant, leur présence et la confiance qu'ils nous ont accordée.

Que toutes les personnes qui, d'une façon ou d'une autre, nous ont aidées par leurs conseils, leur soutien et leur présence tout au long de ce travail soient ici vivement remerciées.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents qui ont toujours cru en moi et qui m'ont donnée les moyens et la volonté tout au long de mes études, que Dieu le Tout Puissant me les garde.

A mes chères frères et sœurs ainsi que leurs épouses et époux

A mes chères neveux et nièces

A mon très cher fiancé et sa famille

A la mémoire de ma grand-mère, de mes grands pères et la mère du ma très chère amie Rabiha.

A ma très chère amie Rabiha et sa famille

A tous (tes) mes amis (es) et ma famille.

Hayat

Dédicaces

A la mémoire de ma mère que Dieu l'accueille dans son vaste paradis

Je dédie ce travail :

A mon très cher père que dieu le protège

A mes chères frères et sœurs ainsi que leurs épouses et époux

A mes chères neveux et nièces

A mon très cher fiancé et sa famille

A ma très chère amie Hayat et sa famille

A tous (tes) mes amis (es) et ma famille.

Pour leur présence, leur amour et leur soutien.

Rabîha

Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I-La pollution du sol par les hydrocarbures	3
I-1- Les hydrocarbures	3
I-1-1- Les définition	3
I-1-2- La classification d'hydrocarbures	3
I-2- Les carburants	4
I-3- Les sources des hydrocarbures dans le sol	5
I-4- Le devenir des hydrocarbures dans le sol	6
I-5- Les effets des hydrocarbures sur le sol	8
I-5-1- Les effets des hydrocarbures sur les propriétés physiques du sol	8
I-5-2- Les effets des hydrocarbures sur les propriétés chimiques du sol	8
I-5-3 Les effets des hydrocarbures sur les propriétés biologiques du sol	8
II- Les techniques de décontamination des sols pollués par les hydrocarbures	8
II-1 Les traitements physiques	8
II-2- Les traitements chimiques	9
II-3- Les traitements thermiques	9
II-4- Les Traitements biologiques	9
III- Quelques travaux réalisés sur la bio décontamination des sols pollués par les hydrocarbures	10

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-1- La présentation du site d'étude	12
II-2- Matériel.....	13
II-2-1- Le sol	13
II-2-2- La souche bactérienne	14
II-2-3- Les fertilisants	14
II-2-3-1- Phosphate dipotassique	14
II-2-3-2- Sulfate d'ammonium	14
II-2-4- Matériel végétal	14
II-3- Les méthodes	14

II-3-1- Le dispositif expérimental	14
II-3-2-L'évaluation de l'efficacité de la bioremediation	15
II-3-2-1- Les analyses physico-chimiques	15
II-3-2-1-1- Le potentiel d'hydrogène (pH)	16
II-3-2-1-2- La conductivité électrique(CE)	16
II-3-2-1-3-L'humidité hydrosopique du sol	16
II-3-2-2- La réalisation des bio-essais	16
II-3-2-3-L'activité biologique globale	16
II-3-2-4-Méthodes d'analyse statistique	19

Chapitre III : Résultats et discussions

III-1- Les résultats des analyses physico-chimiques	20
III-1-1- La conductivité électriques	20
III-1-2- Le potentiel hydrogène	21
III-1-3-Le taux d'humidité hydrosopique	22
III-2- Les résultats des analyses des bio-essais	23
III-2-1- Le taux de germination	23
III-2-2-L' élongation racinaire	24
III-2-3-L'activité biologique globale	24
III-3- La discussion	25
Conclusion	26

Références bibliographiques

Annexe

Liste des abréviations

C_xH_y : formule générale des hydrocarbures

HAP: hydrocarbure aromatique polycyclique

BTEX: Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylènes

Ba: bioaugmentation

Bs : biostimulation

NT : non traité

TS : tension-actif

Ph : phythoremédiation

CE : conductivité électrique

Liste des figures

Figure 1 : Compositions de l'essence	4
Figure 2 : Compositions de gasoil.....	5
Figure 3 : l'image satellitaire de la station-service de Boukhalfa(Aït Benamara) (Google Erth, 2016).....	12
Figure 4 : Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausсен la station de Boukhalfa (2003-2014).	13
Figure 5 : La disposition expérimentale du travail réalisé.....	15
Figure 6 : Schéma du dispositif du test respirométrique	17
Figure 7 : Conductivité électrique des sols traités et non traités.	18
Figure 8 : Valeur de pH des sols traités et non traité.....	19
Figure 9 Valeur d'humidité du sol traité et non traité.....	20
Figure10 : taux de germination dans les sols traité et non traité.....	21
Figure11 :l'élongation racinaire du sol traité et non traité.....	22
Figure12 :l'activité biologique du sol traité et non traité.....	23

Liste des tableaux

Tableau 1 : Types d'hydrocarbures.....	3
Tableau 2 : Micro-organismes capable de dégrader les hydrocarbures pétroliers	7
Tableau 3 : Les techniques de bioremédiation	9
Tableau 4 : Quelques travaux réalisés sur la bio décontamination des sols pollués par les hydrocarbures	10
Tableau 5 : caractéristiques du sol de la station- service.....	13

Liste des annexes

Annexe 1: Données climatique de la station service de Boukhalfa

Annexe 2:normes d'interprétation

Annexe 3 : Résultats des analyses statistiques (les analyses physico-chimiques et les analyses des bio-essais).

Le sol est une source limitée et considérée renouvelable, il fait partie de l'écosystème (Baise et Bernard, 1995). De nos jours, cette unité naturelle est menacée par une importante pollution causée par l'exploration et la production des hydrocarbures (Encarta, 2009).

La pollution causée par les hydrocarbures pétroliers, principalement issus des stations-service, dans l'environnement terrestre et aquatique, présente un effet néfaste sur le sol, la faune et la flore (Thavasi et al., 2011).

D'après les données fournies par l'agence NAFTAL, de Tizi Ouzou (2016), 84 stations-service sont implantées dans la wilaya, 18 stations étatiques et 66 privées. Cette direction distribue la moyenne de 70 camions par jour au niveau de la wilaya et chaque station distribue 1 à 2 camions de 27m³ par jour.

Cette pollution engendre des problèmes écologiques et sociaux significatifs (Thavasi et al., 2011). C'est pourquoi le traitement des sols est nécessaire afin de faire face à ces problèmes de pollution.

De nombreuses techniques physiques, chimiques et thermiques sont disponibles pour la décontamination des surfaces polluées par les produits pétroliers. Cependant, ces méthodes sont très coûteuses et ne préservent pas la qualité du sol, d'où l'intérêt de l'utilisation des techniques biologiques, qui sont peu coûteuses et plus protégées de l'environnement (Koller, 2009).

La bioremediation est une approche attractive de nettoyage des hydrocarbures pétroliers car elle est simple à maintenir, applicable sur une large surface et moins coûteuse (Bento et al., 2005). Il s'agit d'une technique douce dont le principe consiste en la minéralisation et la destruction complète des contaminants pétroliers qui ne génère aucun sous-produit toxique (Lecomte, 1998).

De nombreux travaux ont été publiés par Glick (2003), Silva-Castro (2013) et Dave et al. (2014) sur l'application de la biodécontamination des sols pollués aux hydrocarbures et leurs résultats étaient satisfaisants. Gabet (2004) a noté que la décontamination des sols à l'aide d'un tensio-actif d'origine biologique a été améliorée. Plusieurs travaux ont montré l'efficacité de techniques biologiques, telle que la bioaugmentation (Amiri, 2013 ; Alik et Belkacem, 2015), la biostimulation (Nait Abdelkader et Djenad, 2015), l'association de la bioaugmentation et de la biostimulation (Hadjou et Rabhi, 2015) et la phytoremédiation (Bourkache et Boussanou, 2015) à améliorer la qualité biologique des sols.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude, qui consiste en l'application de différentes techniques de décontamination des sols telles que la bio-stimulation, la bioaugmentation, la phytoremédiation et l'ajout d'un tensioactif biologique ainsi que leurs associations dans un sol pollué par les rejets d'une station-service.

L'objectif principal de notre travail est de faire une comparaison de l'efficacité entre les différentes techniques de dépollution et leurs associations et également avec l'atténuation naturelle. Cette efficacité est évaluée par la mesure des paramètres physico-chimiques tels que la conductivité électrique, le pH et l'humidité du sol et la réalisation d'essais biologiques, notamment le taux de germination des graines, l'élongation racinaire et l'activité biologique globale du sol.

Notre mémoire s'articule autour de trois (3) chapitres;

- Le 1^{er} chapitre comporte une synthèse bibliographique sur la pollution des sols par les hydrocarbures et les différentes techniques de décontamination, particulièrement les techniques biologiques.
- Le 2^{ème} chapitre est consacré à la présentation de la station d'étude, du matériel et des méthodes expérimentales utilisés dans ce travail.
- Le 3^{ème} chapitre de ce manuscrit a pour objet la présentation des différents résultats expérimentaux obtenus et leur discussion.

Notre mémoire est terminé par une conclusion générale et quelques perspectives.

Introduction :

Le phénomène de la pollution des sols par les hydrocarbures a une importance de plus en plus grande sur les plans environnement, sanitaire et économique. Cette pollution peut avoir un impact direct ou indirect sur la santé humaine et l'équilibre des écosystèmes (Koller, 2004).

I- Pollution du sol par les hydrocarbures :

La contamination des sols par les hydrocarbures est répandue à travers le monde, elle est dû à l'utilisation intense du pétrole comme principale source d'énergie (Pulgarin, 2012).

I-1- Les hydrocarbures :

Les hydrocarbures représentent la source principale d'énergie dans le monde.

I-1-1- Définition :

Les hydrocarbures sont des molécules contenant des atomes de carbone, d'hydrogène de formule C_xH_y , d'azote, d'oxygène et de soufre (Triffault-Bouchet et al., 2015). Ces hydrocarbures sont souvent classés selon leur nature. On distingue ainsi les hydrocarbures saturés et insaturés. Ceux-ci peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques (Le corfec, 2011).

I-1-2-Classification des hydrocarbures :

On distingue trois grandes familles d'hydrocarbures présentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : types d'hydrocarbures (Colin, 2000 ; Picot et Montandon, 2013).

Famille	Désignation courante	Désignation officielle	Motif structurel	Formule globale
Saturés	Paraffines	Alcanes	$\begin{array}{c} \quad \\ -C - C- \\ \quad \end{array}$	C_nH_{2n+2}
	Naphtènes	Cyclanes	Cycle de 3 à 6 atomes de carbone	C_nH_{2n}
Insaturés	Oléfines	Alcènes	$\begin{array}{c} \quad \\ -C = C- \end{array}$	C_nH_{2n}
	Acétyléniques	Alcènes	$-C \equiv C-$	C_nH_{2n-2}
Aromatiques	Aromatiques	Monocyclique Polycyclique		

I-2-Les carburants :

Les hydrocarbures se trouvent sous forme d'un mélange comme les carburants lourds et les carburants légers (Saada et al., 2005).

Les fuites des carburants des réservoirs de stockage dans les stations-service représentent la source majeure de contamination par les hydrocarbures (Gallego et al., 2001). Les carburants se présentent sous forme de mélange d'hydrocarbures.

I-2-1- Essence :

C'est un liquide incolore ayant une odeur caractéristique. Elle se compose principalement de chaînes d'hydrocarbures de 4 à 12 atomes de carbone (Carnicer et Victoria, 2007). Il existe des essences plombées et des essences sans plomb ou essence super (Le corfec, 2011). Elles sont constituées majoritairement d'alcanes (Figure 1).

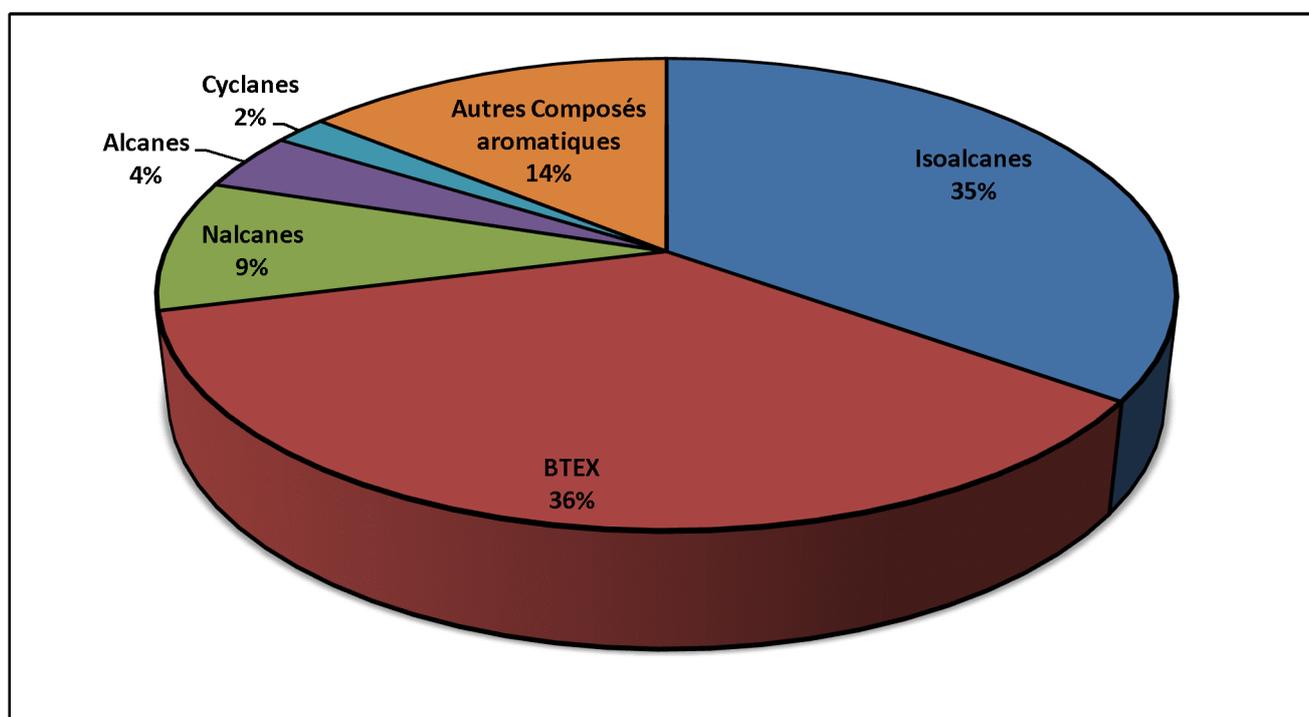


Figure 1 : Compositions de l'essence (Marchal et al., 2003).

I-2-2-Gasoil :

Se compose de fraction plus lourdes, principalement de chaînes d'hydrocarbures de 10 à 28 atomes de carbone (Carnicer et Victoria, 2007) Sa composition est donnée dans la figure 2.

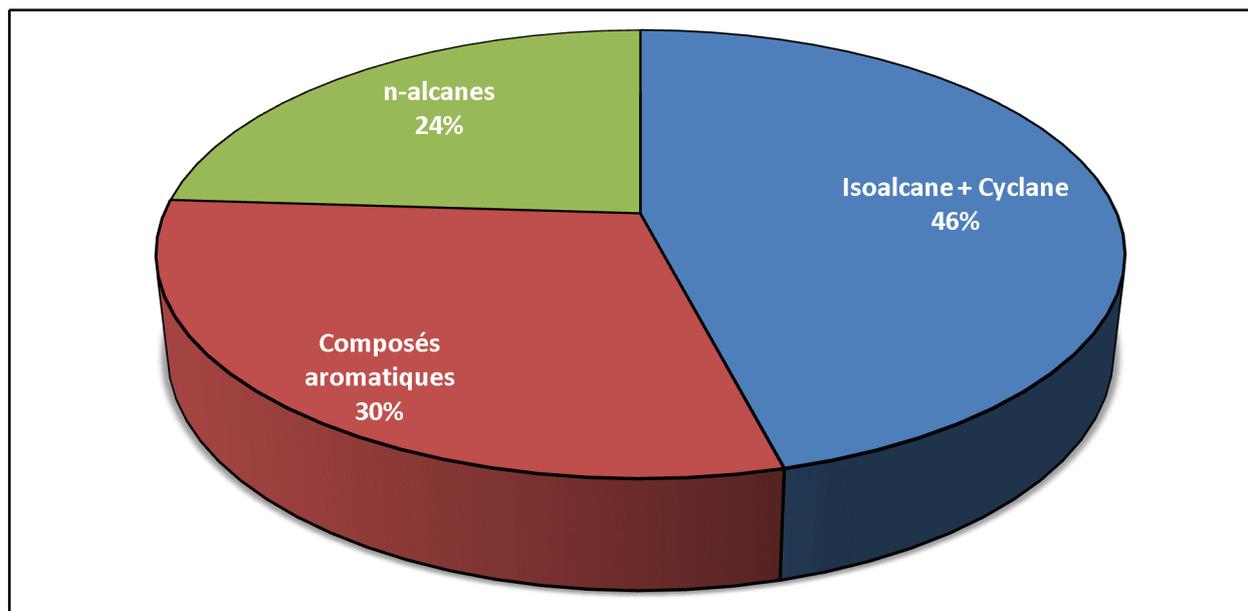


Figure 2 : Compositions de gasoil (Marchal et al., 2003).

I-3- Les sources des hydrocarbures dans le sol :

Les hydrocarbures présents dans l'environnement proviennent généralement d'une pollution pétrolière ou sont proviennent de la pétrochimie, d'usines à gaz, de certaines industries chimiques ou industries mécaniques (Saada et al., 2005).

Selon Colin (2000), la pollution des sols par les hydrocarbures peut avoir des origines diverses : les huiles de vidanges, les fuites des vieilles citernes de fuel et les fuites des carburants lors du remplissage des stockages et lors de la distribution, les déchets des usines de traitement du pétrole, les boues de curage des fossés qui sont rejetées latéralement sur le sol.

Les HAP peuvent émerger à partir de processus naturels comme les feux de forêt ou par des activités anthropiques qui sont les principales causes de la pollution par ces dernies. Ils parviennent au sol par les retombées atmosphériques (Pulgarin, 2012).

➤ Cas des stations-service :

Les stations-service constituent une source importante de pollution urbaine. L'exploitation de ce type d'activités représente une source potentielle de nuisance (trafic, bruit, pollution du sol et des eaux,...) pour le voisinage direct. La contamination des sols par les carburants constitue un des risques majeurs pour l'environnement.

Dans ce cas, l'origine de la pollution provient, soit des mauvaises habitudes telles que le déversement d'hydrocarbures lors du remplissage des stockages de la station ou de la distribution de carburants, soit des fuites des cuves enterrées.

Les ruissellements vont ensuite provoquer le déplacement des pollutions qui peuvent contaminer ainsi le sol et atteindre dans certains cas les nappes souterraines, ou les entrainer dans les rivières (Patej, 2002).

I-4- Devenir des hydrocarbures dans le sol :

Le devenir des hydrocarbures dans le sol dépend des propriétés d'hydrocarbures et des propriétés des sols.

I-4-1- Volatilisation :

Le Transfert des hydrocarbures du sol vers l'atmosphère se fait par volatilisation ce qui engendre la diminution de la concentration des hydrocarbures dans le sol (Koller, 2004).

Ce mécanisme dépend de la pression de vapeur c'est à dire le composé sera volatile l'orsque la pression de vapeur est élevée. C'est le cas par exemple des BTEX qui sont volatils avec une pression de vapeur supérieure à 133 Pa.

Les propriétés du sol jouent aussi un rôle dans la volatilisation des hydrocarbures. En effet, plus l'humidité du sol est grande plus le volume des pores disponibles pour le passage des vapeurs est faible, et donc moins la volatilisation sera importante. Dans un sol sableux, les pores ont un diamètre important, ce qui favorise de plus grands transferts de masse de vapeur vers l'atmosphère et donc une plus grande atténuation contrairement au sol argileux (Saada et al., 2005).

I-4-2- Solubilisation :

La solubilité des hydrocarbures dans le sol dépend de leur nature et leur poids moléculaire. Les composés légers sont relativement solubles, par contre les produits plus lourds sont très peu solubles. Les hydrocarbures solubilisé accumulent dans le sol peuvent être absorbés par les plantes, et ensuite transférés dans la chaîne alimentaire. La solubilisation joue un rôle important dans la détermination du degré de dispersion et de migration des hydrocarbures, ainsi que leur degré d'exposition aux microorganismes responsables de la dégradation biologique (Bergue et Mérienne, 1986).

I-4-3- Adsorption :

L'adsorption est la propriété qu'ont certains corps solides de retenir les molécules d'autres corps à leur surface. La quantité d'hydrocarbures adsorbés est fortement liée aux propriétés du sol, et à l'hydrophobicité du composé. Plus l'humidité est importante plus la quantité de pores occupés par la phase aqueuse est grande, et donc plus le volume de pores disponibles pour retenir les hydrocarbures contenus dans le sol est faible. L'argile possède une surface spécifique élevée et donc adsorbe facilement les polluants organiques (Saada et al., 2005).

I-4-4- La dégradation :

C'est la transformation de la molécule de base. Elle peut être biotique ou abiotique.

I-4-4-1- La dégradation abiotique :

La dégradation abiotique peut être physique ou chimique. Les réactions de photo-oxydation physiques et d'oxydoréductions, l'hydrolyse chimique sont les trois processus principaux de cette dégradation (Saada et al., 2005).

I-4-4-2- La dégradation biotique :

La biodégradation est l'ensemble des mécanismes de transformation d'un hydrocarbure en différents sous produits, par l'action des micro-organismes (Saada et al., 2005 et Triffault-Bouchet et al., 2015).

Plusieurs souches bactériennes dégradant les hydrocarbures ont été recensés. Dans le tableau 2 sont cités les micro-organismes principaux qui dégradent les hydrocarbures pétroliers.

Tableau2: Espèces de micro-organismes capables des dégrader les hydrocarbures pétroliers (Saada et al., 2005).

Contaminant	Micro-organismes
Benzène	<i>Pseudomonas putida, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter, Nocardia sp.</i>
Toluène	<i>Bacillus sp., Pseudomonas putida, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas sp.</i>
Ethylbenzène	<i>Pseudomonas putida, Pseudomonas sp.</i>
Xylènes	<i>Pseudomonas putida, Pseudomonas sp.</i>
Naphtalène	<i>Pseudomonas putida.</i>
Alcanes	<i>Pseudomonas oleovorans, Methanosarcina barkeri.</i>

La souche la plus documentée est *Pseudomonas aeruginosa* capable de dégrader divers hydrocarbures. C'est une espèce bactérienne ubiquitaire à gram négative ayant des exigences nutritives peu importantes et capable de survivre dans l'environnement et particulièrement en milieu humide, la température de sa croissance est de 30°C. Cette bactérie joue un rôle très important dans la dégradation des HAP (Cerniglia, 1992 ; Yin et al., 2009).

➤ **Les mécanismes de biodégradation des principaux carburants :**

Les essences et les gasoils sont composés des mêmes classes d'hydrocarbures, ces carburants possèdent des différences au niveau de leur biodégradation. Les essences possèdent un taux de biodégradation intrinsèque plus élevé que les gasoils. Cette différence de biodégradabilité vient du fait que les gasoils sont constitués majoritairement d'hydrocarbures plus lourds (iso-alcanes et alcanes ramifiés) par contre les essences sont constituées majoritairement de BTEX et autres aromatiques légers. En règle générale, plus la masse molaire ou le nombre de cycle augment plus les vitesses de biodégradation diminue (Saada et al., 2005).

Selon Plaza et al. (2008), les bactéries produisant des biosurfactants sont capables de dégrader de façon efficace les hydrocarbures pétroliers et leurs produits de distillation. C'est le cas de *Pseudomonas aeruginosa* qui produit un rhamnolipide.

Les biosurfactants ou bien les tensio-actifs sont des composés biologiques qui sont des molécules amphiphiles jouent un rôle important dans la dégradation des hydrocarbures.

I-5- Effet des hydrocarbures sur le sol :

I-5-1- Effet des hydrocarbures sur les propriétés physiques du sol :

La contamination du sol par les hydrocarbures augmente sa densité (Koller, 2004 et Amiri, 2013). Les hydrocarbures provoquent aussi une augmentation de l'humidité sol avec 2% plus que les sols non pollués et ont un pouvoir de rétention plus élevé (Bergue et Mérienne, 1986).

I-5-2- Effet des hydrocarbures sur les propriétés chimiques du sol :

Une diminution du pH dans le sol contaminé a été observée, conduisant généralement à une légère acidification du sol (Bergue et Mérienne, 1986 et Amiri, 2013). Une augmentation de la teneur en matière organique est constatée dans le sol contaminé, elle est dû à l'apport des hydrocarbures qui sont des composés organiques (Ramade, 1992 et Amiri, 2013).

I-5-3 Effet des hydrocarbures sur les propriétés biologiques du sol :

Selon Jambu (1991) cité par (Duchaufour, 2001) les hydrocarbures, s'ils sont incorporés au sol en quantité limitée (moins de 2% de la couche superficielle 0-15cm), n'exercent pas d'action dépressive vis-à-vis des micro-organismes du sol ; mais ils exercent une action nocive indirecte ; les composés humiques sont enrichis en lipides, deviennent à leur tour hydrophobes et difficilement biodégradables ; la perméabilité excessive du sol ne permet pas la constitution de réserves hydriques suffisantes.

Il existe dans le sol témoin des souches capables de dégrader les hydrocarbures mais l'apport en hydrocarbures fait qu'il y a de nouveaux genres qui se développent *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Citrobacter*, d'autres qui disparaissent *Staphylococcus* (Fezani et Khider, 2007).

II- Les techniques de décontamination des sols pollués par les hydrocarbures :

Les principales techniques de traitement d'un site pollué actuellement disponibles pour les sols, les eaux et les gaz. La présentation de chaque technique considérée rassemble principalement les informations relatives à sa description, son domaine d'application, son efficacité, ses coûts, ses avantages et ses inconvénients (Colombano et al., 2010).

II-1- Traitements physiques :

Ce sont les méthodes les plus largement utilisées. Leur principe consiste à utiliser des fluides, présentes dans le sol ou injectés comme vecteur pour transporter la pollution vers des points de concentration et d'extraction (Scriban, 1999).

II-2- Traitements chimiques :

Les procédés chimiques utilisent des réactifs pour détruire les polluants, les transformer en des composés moins toxiques et plus facilement biodégradables ou modifier leurs caractéristiques (mobilité, toxicité) (Colin, 2000).

II-3- Traitements thermiques :

Les traitements thermiques utilisent la chaleur pour dégrader les contaminants présents dans les sols contaminés. Les plus utilisés sont la désorption thermique et l'incinération (Magalie, 2013).

II-4- Traitements biologiques :

C'est l'utilisation des propriétés dépolluantes des organismes vivants pour réduire la toxicité, la mobilité ou le volume d'un contaminant dans le sol, le sous sol, les eaux et les effluents gazeux (tableau 3).

Tableau 3 : Les techniques de bioremédiation (Rivière, 1998 ; Colombano et al., 2010 ; Cadiere, 2006 et David, 2013).

Techniques	Principes
Atténuation naturelle	Utiliser la capacité de certains microorganismes présents dans le milieu à transformer le polluant en substrat (source de carbone, d'énergie).
Phytoremédiation	Utiliser des plantes pour dépolluer des milieux contaminés (sols, liquides, air). Elle utilise les capacités des plantes à extraire, dégrader, transformer, volatiliser, stabiliser ou accumuler des éléments toxiques.
Bioaugmentation	Introduire dans le sol contaminé des microorganismes autochtones ou allochtones capables de traiter les polluants présents.
Biostimulation	Ajouter des nutriments et d'agent correcteurs du milieu et offrir les conditions optimales de croissance microbienne.
Bioventing	Injection d'air ou d'Oxygène afin d'y favoriser l'activité microbienne et la volatilisation des polluants.
Bioréacteur (bioslurry)	Mélanger les sols pollués avec de l'eau et divers additifs afin de mettre les particules de sols en suspension dans l'eau et de former un mélange boueux... Les boues sont traitées par voie biologique dans des bioréacteurs puis sont déshydratées.
Biopiles (Biotertre)	Amonceler les sols excavés, à les humidifier, à les amender et à les aérer afin d'accélérer la biodégradation des contaminants. Les conditions idéales dans les biopiles sont contrôlées (aération, ajouts de nutriments, température, taux d'humidité, oxygène, pH...).
Land farming	Étaler sur une faible épaisseur des sols pollués sur un support imperméable et à favoriser, via des techniques agricoles classiques, leur biodégradation aérobie.

III- Quelques travaux réalisés sur la bio-décontamination des sols pollués par les hydrocarbures :

Une synthèse de quelques travaux réalisés durant ces dernières années, ayant porté sur l'application de techniques biologiques afin de décontaminer des sols pollués aux hydrocarbures, est présentée dans le tableau 4.

Tableau 4 : Quelques travaux réalisés sur la bio-décontamination des sols pollués par les hydrocarbures.

Auteurs	Intitulés	Résultats
Coulon and Delille (2003)	Effects of Biostimulation on Growth of Indigenous Bacteria in Sub-Antarctic Soil Contaminated with Oil Hydrocarbons	la biostimulation a favorisé la croissance des bactéries indigènes dans le sol avec une augmentation du nombre de bactéries hétérotrophes et spécifiques.
Bento et al. (2005)	Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation	L'addition des nutriments (l'azote et le phosphore) améliore la dégradation du diesel. La bioaugmentation aboutit à la dégradation du diesel avec environ 75% par l'ajout des bactéries dans le sol contaminé.
Fezani et Khider (2007)	Toxicité vis-à-vis des plantes leur caractérisation et leurs effets sur la microflore du sol	Mise en évidence de l'effet dépressif des hydrocarbures sur le végétal et la comparaison des genres de bactéries dans les sols pollués et les sols non pollués.
Nasseri et al. (2010)	Influence Of Bioaugmentation In Biodegradation Of Pahs-Contaminated Soil In Bio-Slurry Phase Reactor	Le traitement par bioaugmentation a fortement amélioré la dégradation des hydrocarbures dans le bioréacteur.
Khan et al. (2013)	Plant-bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils	L'association de la bioaugmentation et de la phytoremédiation a été plus efficace que chacune des techniques appliquée seule.
Silva-Castro (2013)	Bioremediation of diesel-polluted soil using biostimulation as post-treatment after oxidation with Fenton-like reagents: Assays in a pilot plant	La biostimulation améliore la dégradation microbienne après un traitement chimique du sol, dans les sites pollués.
Chibane (2013)	Caractérisation des hydrocarbures extraits de sols dépollués par la technique de phytoremédiation.	Diminution de la quantité d'hydrocarbures après culture des espèces de légumineuses, ce qui indique l'efficacité de cette technique.
Laribi (2014)	Essai de phytoremédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures provenant d'une station-service.	Capacité de la Luzerne à remédier un sol pollué par des carburants provenant d'une station service (gasoil et essence) à différentes concentrations.

Szulc (2014)	The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil: Feasibility during field studies	L'addition des biosurfactants améliore l'efficacité de la bioaugmentation appliquée in situ.
-----------------	--	--

Il ressort des travaux réalisés que l'association de deux techniques a montré une meilleure efficacité dans la dégradation des hydrocarbures que les techniques appliquées seules. Cette efficacité serait-elle encore meilleure en associant plusieurs techniques dans des traitements in situ ?

Notre travail expérimental a été réalisé au niveau de la station service de « Boukhalfa ». Il a porté sur un sol pollué par l'essence super et le gasoil qui s'y déversent directement.

Il s'agit d'appliquer in situ différentes techniques de remédiation qui sont la bioaugmentation, la biostimulation, la phytoremédiation, l'ajout de biosurfactants ainsi que leurs combinaisons.

II-1 Présentation du site d'étude :

Notre travail a été conduit à la station-service de « Boukhalfa ». Le choix de cette station est justifié par la présence d'une pollution du sol par les carburants ; ce qui représente un risque environnemental.

➤ Localisation et description de la station d'étude :

Cette station se situe à 5 Km chef lieu de la commune de Tizi-Ouzou sur la route nationale numéro 12. Elle a été créée en Février 2002. De surface d'un hectare, sa capacité de stockage ne dépasse pas les 40 m³ d'essence et les 400 m³ du gasoil (NAFTAL, 2016).

Selon l'image satellitaire (fig.3), cette station est située à proximité de terres agricoles et d'un cours d'eau, ce qui représente un risque de pollution de l'eau et du sol environnant.



Figure3 : l'image satellitaire de la station-service de Boukhalfa (Google Earth, 2016).

Sur le climagramme d'Emberger (Tableau1, annexe1), notre station est située dans l'étage subhumide à variante tempérée.

Le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson pour la période (2003-2014) (Tableau 2, annexe 1) montre que cette région présente une période sèche qui s'étale du début du mois de Juin

à la fin du mois de Septembre et une saison humide qui va de la fin du mois de septembre à la fin du mois de Mai (fig.4).

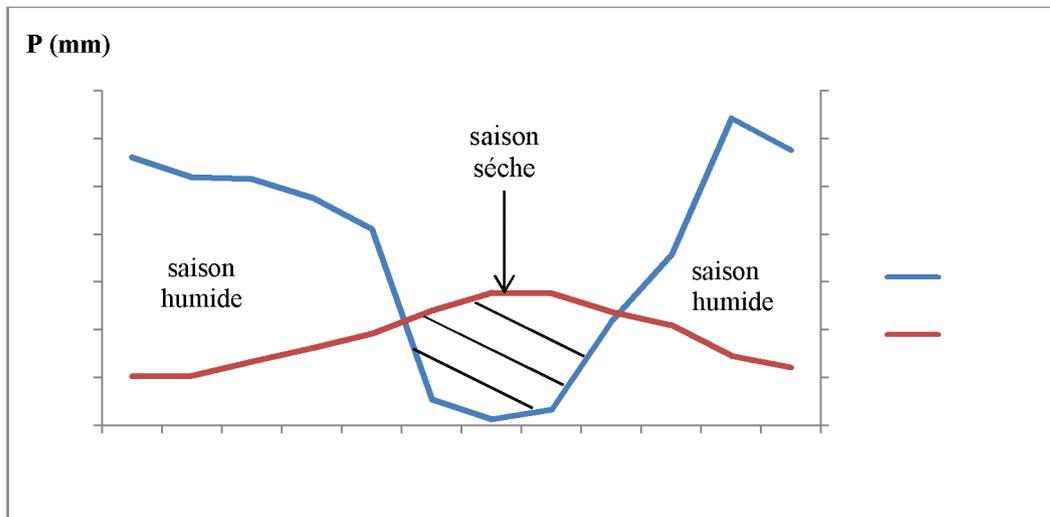


Figure 4: Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson pour la station de Boukhalfa (2003-2014).

II-2Matériel :

II-2-1 Le sol :

L'étude expérimentale a été réalisée sur la couche de surface (0-15 cm). C'est un sol contaminé par l'essence super et le gasoil se déversant des conduits de trop-plein des réservoirs. Autour de la source de la pollution, le sol est nu de couleur noire ce qui indique une forte contamination par ces rejets déversés directement sur le sol.

Le tableau 5 résume les caractéristiques du sol dont les analyses ont été effectuées au laboratoire de pédologie de L'INRF de Bainem.

Tableau 5 : caractéristiques du sol de la station-service.

Caractéristiques physico-chimiques du sol	Résultats
pH	7,2
Carbone organique	8,84%
Azote total	0,3%
Phosphore assimilable (P ₂ O ₅)	5,45mg P ₂ O ₅ /kg du sol
CE	0,74 mmhos/cm
Texture	Limono-argileuse
C /N	29,47%

Le sol utilisé dans notre essai est de pH neutre, d'une texture limono-argileuse ce qui signifie que c'est un sol lourd muni d'une capacité de rétention en eau et en éléments nutritifs. C'est un sol non salé, riche en carbone organique et faiblement pourvu en azote et en phosphore, le rapport C/N est supérieur à 12 ce qui indique que la minéralisation rencontre des difficultés (Baize, 2000 et Mathieu et Pieltain, 2003), (annexe 2).

II-2-2 La souche bactérienne :

Pour la bioaugmentation, nous avons utilisé la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* qui a la capacité de dégrader les hydrocarbures présents dans le milieu pollué grâce à la production de biosurfactants (Rojo, 2009).

II-2-3 Les fertilisants :

Pour la biostimulation, nous avons enrichi le sol en phosphore et en azote qui sont deux éléments manquants dans le sol contaminé (Amiri, 2013) et sont importants pour la croissance bactérienne. Ces éléments sont des facteurs limitant la biodégradation des hydrocarbures (Ramade, 1992). Ces éléments sont apportés sous forme de sels.

II-2-3-1 Phosphate dipotassique :

De formule chimique K_2HPO_4 , c'est une poudre granulaire, incolore ou blanche, avec un poids moléculaire de 174.18g/mol.

II-2-3-2 Sulfate d'ammonium :

De formule chimique $(NH_4)_2SO_4$, se présente sous forme de cristaux, de couleur blanchâtre et un poids moléculaire de 132.14g/mol.

II-2-4 Matériel végétal :

Nous avons utilisé deux espèces végétales la fève et le maïs.

II-2-4-1 Fève :

Pour la phytothérapie, nous avons utilisé la fève qui est une espèce légumineuse. Dans le sol pollué, il y a un manque d'azote et dans ces conditions les légumineuses fixatrices d'azote sont les plus résistantes (Schwartz et al., 1999 in Duchaufour, 2001). Les légumineuses sont des plantes tolérantes et parmi elles la fève qui est la plus tolérante (Belcace et Rouas, 2012 ; Zerrouki et Ouhadda, 2013 ; Bourkache et Boussemou, 2015 ; Slimani, 2015).

II-2-4-2 Maïs :

Il est utilisé dans les essais biologiques pour estimer l'efficacité des traitements appliqués car le maïs fait partie des plantes les plus sensibles à la présence des hydrocarbures dans le sol (Chaîneau et al., 1996).

II-3 Méthodes :**II-3-1 Dispositif expérimental :**

Notre parcelle est située sur un sol nu proche de la source de la pollution, elle est de 180 cm de long et 80 cm de large. Cette parcelle est divisée en quatre sous-parcelles de dimension de 80 cm x 45 cm, chacune a été ensuite subdivisée en quatre placettes de 45 cm x 20 cm, dans chaque placette nous avons réalisé trois placeaux, nous avons prélevé 1 kg du sol à l'horizon de surface traité et mettre dans le tulle et remet en place, il y a ceux qui sont traités avec une seule technique soit par biostimulation avec l'ajout

des fertilisants, bioaugmentation avec une souche bactérienne (*Pseudomonas aeruginosa*), la tension -actif (biosurfactans) ou par phytoremédiation avec des plantes et d'outre traité avec l'association de ces techniques. Le schéma suivant représente les différentes techniques appliquées in situ.

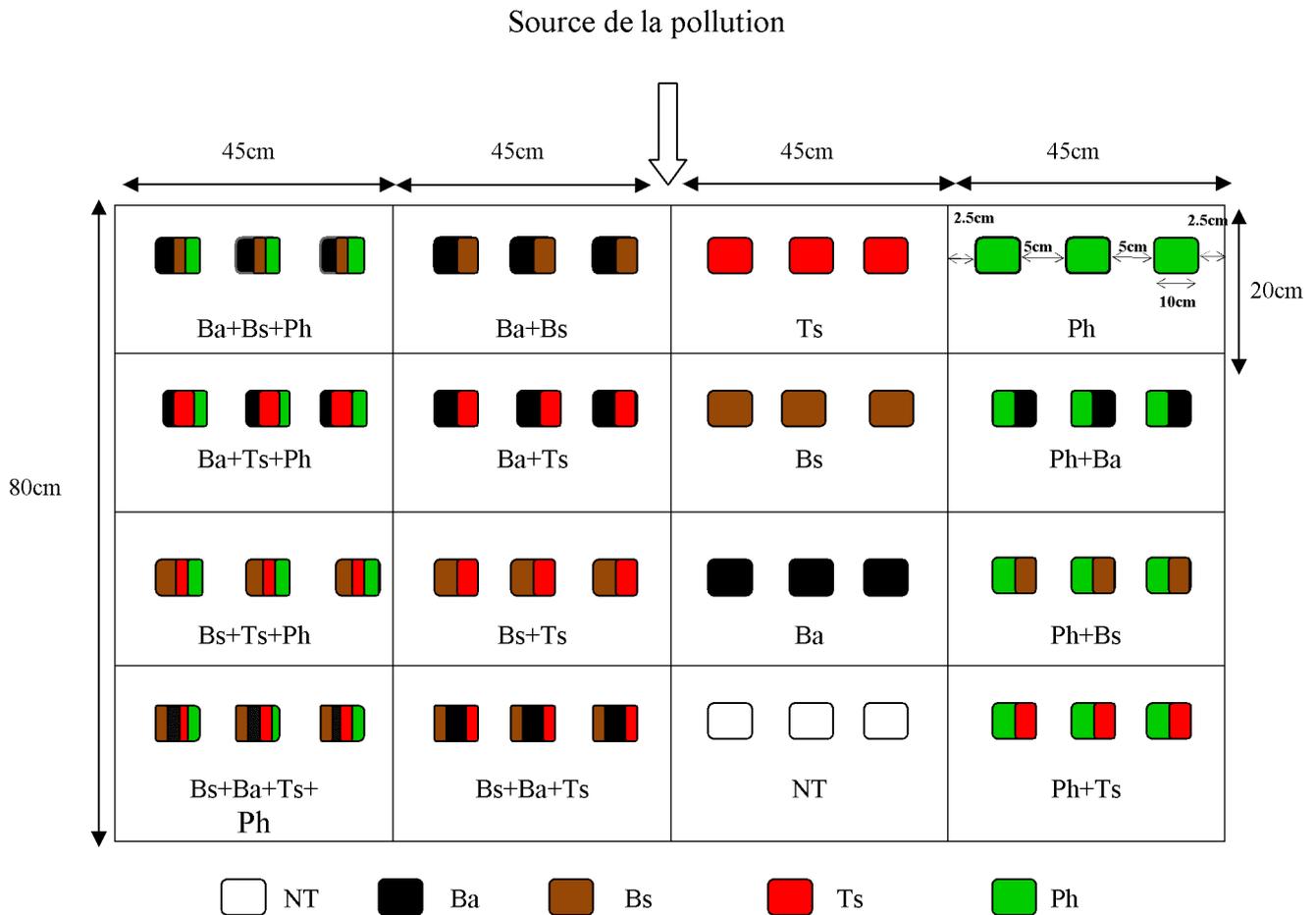


Figure 5 : Dispositif expérimental

Un prélèvement du sol est réalisé dans chaque placeau tous les 21 jours ; soit trois prélèvements de sol font alors l'objet d'analyses physicochimiques (pH, CE, humidité). Des bio-essais (test de germination, mesure de l'élongation racinaire, activité biologique globale du sol et biomasse microbienne) ont été menés par ailleurs afin de rendre compte de l'efficacité des traitements appliqués.

II-3-2 Evaluation de l'efficacité de la bioremédiation :

Pour évaluer l'efficacité de la bioremédiation par l'application des différentes techniques in situ, nous avons étudié l'effet des hydrocarbures sur plusieurs paramètres physico-chimiques du sol et réalisé des bio-essais.

II-3-2-1 Analyses physico-chimiques du sol :

Nous avons mesuré le potentiel d'hydrogène (pH), la conductivité électrique(CE), et déterminé le taux d'humidité(%) hygroscopique du sol.

II-3-2-1-1 Potentiel d'hydrogène (pH) :

Pour la détermination du pH, nous avons mélangé le sol avec l'eau distillée au rapport sol /eau de 2/5. Le mélange est agité pendant 5 mn à l'aide d'un agitateur magnétique puis laissé décanter pendant 2 heures. Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH mètre de référence HI 2210.

II-3-2-1-2 Conductivité électrique (CE) :

Pour mesurer la CE, le sol a été mélangé avec l'eau distillée au rapport masse /volume de 1/5. Après une agitation de 2 mn, le mélange est laissé décanter. Par la suite nous avons filtré les solutions afin d'obtenir une solution claire, la lecture est fait à l'aide d'un conductimètre de référence LF 42.

$$CE \text{ (mmhos/cm)} = \text{Valeur lue} \times \text{Constante de cellule} \times \text{Chiffre de correction}$$

II-3-2-1-3 Taux d'humidité hygroscopique du sol :

C'est la quantité d'eau (en %) retenue par la terre séchée à 105°C pendant 24h.

Le sol est pesé à l'état frais (PF) puis séché jusqu'à poids constant (PS).

L'humidité du sol est alors calculée par la formule suivante :

$$H \text{ (\%)} = (PF - PS / PS) \times 100$$

II-3-2-2 Réalisation des bio-essais :

Les testes que nous avons utilisé sont test de germination, mesure de l'élongation racinaire.

II-3-2-2-1 Test de germination :

Le test de germination nous a permis d'établir des pourcentages de germination dans le sol témoin (non traité) et les sols traités par les différentes techniques.

Nous avons semé 100 graines de maïs dans des boites de Pétri dans les conditions ambiantes.

Après 15 jours, nous avons dénombré les graines germées et arrosé régulièrement.

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

Un test de germination a été réalisé sur le sol contaminé avant l'application des traitements.

II-3-2-2-2 Mesure de l'élongation racinaire :

Nous avons pris 5 plantules de maïs deux semaines après le semis et mesuré la longueur des racines pour chacune, ainsi nous avons remet ces plantules et après 15 jours refaire la mesure.

II-3-2-3 L'activité biologique globale :

C'est la mesure de la respiration des microorganismes et de quantifier le CO₂ dégagé lors d'une incubation de 7 jours à 30°C. Nous avons pris 50g du sol de chaque placeau pour les

mettre dans des flacons de 250ml, nous avons placé deux tubes à hémolyse dans ces derniers l'un contient de l'eau distillée (pour éviter le dessèchement du sol) et l'autre contient 5ml de NaOH 0,5N pour capter le CO₂ libéré par les microorganismes du sol (fig 6). l'excès de NaOH est titré avec l'acide sulfurique 0,25N par la présence de phénolphtaléine (Chaussod et Nicolardot, 1982).

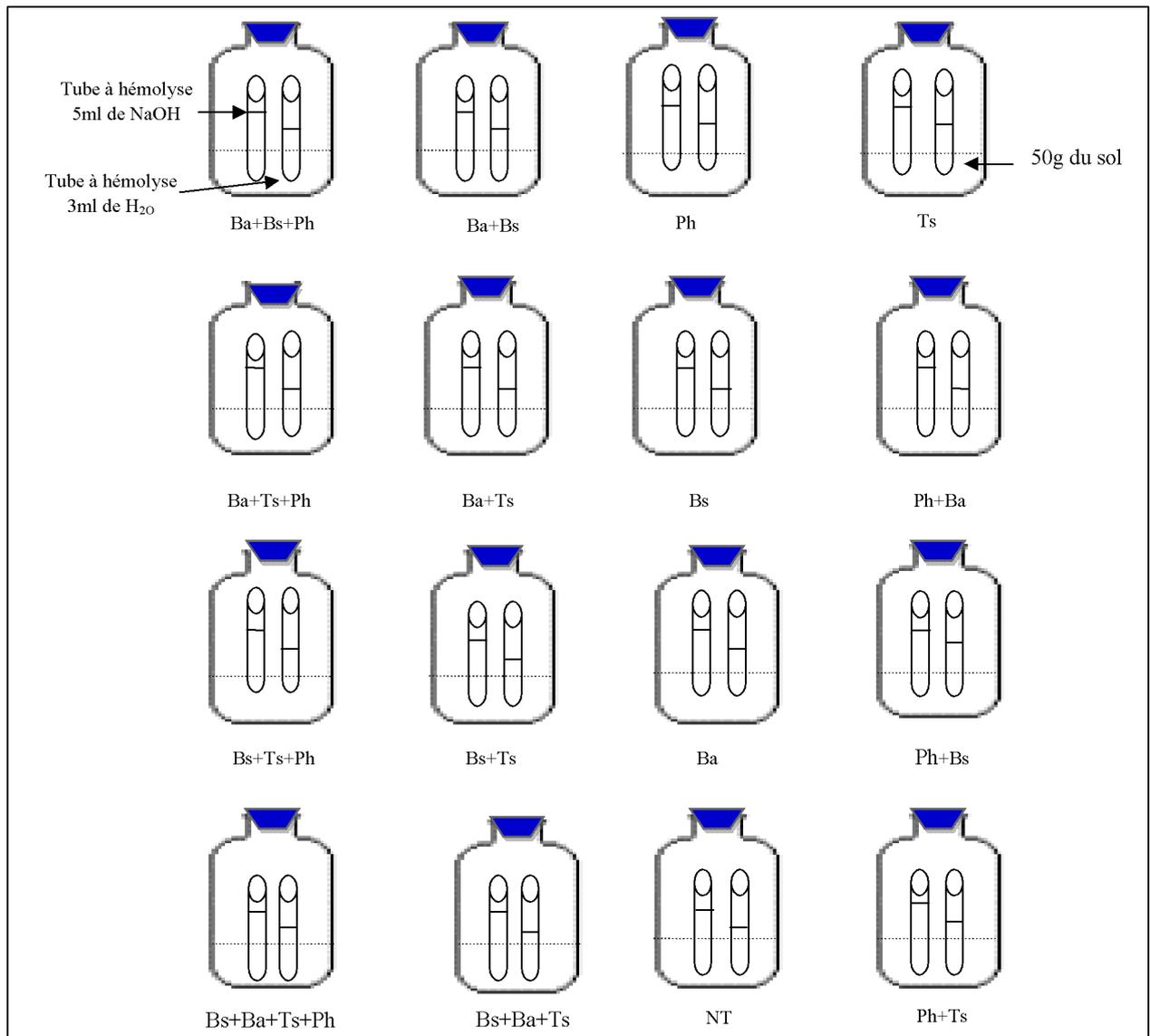


Figure 6 : schéma du dispositif du test respirométrique.

II-3-2-6 Méthodes d'analyse statistique :

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R.3.1.1. Les résultats obtenus ont été soumis au test du Kruskal-Wallis car les variables analysées ne suivent pas une loi normale. Dans le cas des données gaussiennes, les résultats ont fait l'objet d'une ANOVA, suivie du test de Newman-Keuls lorsque les différences entre les moyennes étaient significatives.

Notre travail a consisté en un essai de dépollution d'un sol contaminé par les rejets des hydrocarbures dans une station-service à l'aide de techniques biologiques : la bioaugmentation, la biostimulation, la phytoremédiation et l'ajout de biotensio-actifs et de leurs associations.

III-1-Résultats des analyses physico-chimiques du sol :

III-1-1-la conductivité électriques :

Les résultats de la mesure de la conductivité électrique dans tout le document des sols traités et non traité par les différentes techniques de dépollution sont présentés dans la figure 7.

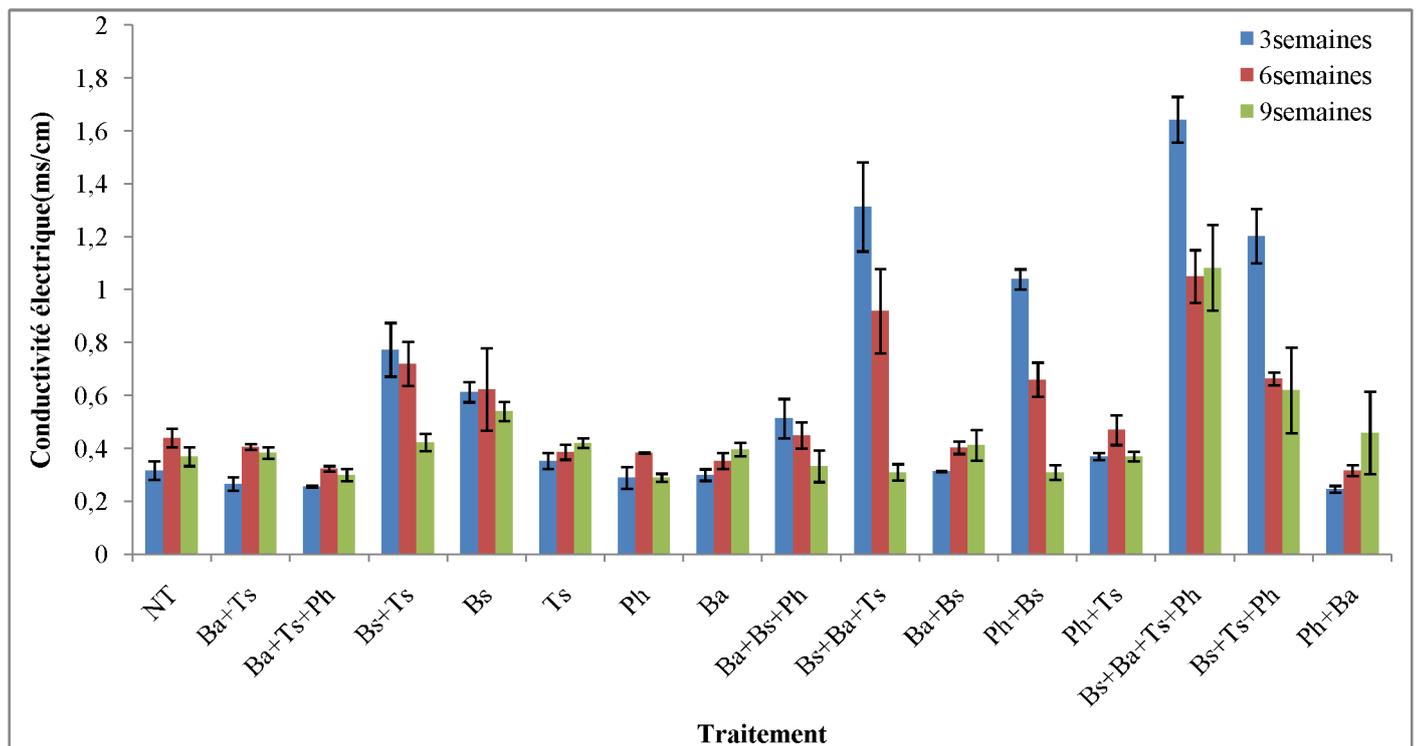


Figure 7 : Valeurs de la conductivité électrique des sols traités et non traités.

La figure nous montre une variation de la conductivité électrique dans le temps de traitement .

Après 3 semaines de traitement nous avons remarqué une importante augmentation de la conductivité électrique de sol traité par les techniques combinées Bs+Ba+Ts+Ph (1,64 ms/cm), Bs+Ba+Ts (1,31ms /cm), Bs+Ts+Ph (1,20 ms /cm) et Ph+Bs (1,04 ms /cm) par rapport au sol non traité (0,31 ms /cm). Une diminution de la CE dans les sols traités par Ph + Ba, Ba + Ts + Ph, Ba+Ts avec des valeurs de 0,24, 0,25, 0,26 respectivement.

Au bout de la 6^{ème} semaine nous avons enregistré une augmentation de la CE principalement pour Bs+Ba+Ts+Ph, Bs+Ba+Ts, Bs+Ts et Bs où l'on a obtenu respectivement 1,05, 0,92, 0,72 et 0,62 par rapport au sol non traité (0,31 ms /cm). Nous remarquons également une

diminution de la CE pour Ba+Ts, Ba et Ph+Ba (0,4, 0,35 et 0,31 respectivement) en comparaison avec le sol non traité.

Après 9 semaines, nous avons enregistré une faible variation de la CE, une augmentation de celle-ci pour Bs+Ba+Ts+Ph est de 1,08, Bs+Ts +Ph et Bs avec une valeur de 0,62ms/cm par rapport au sol non traité dans lequel nous avons une CE de 0,37ms/cm. Cependant nous avons constaté une légère réduction de la CE pour les autres traitements par rapport au sol non traité.

Le test de Kruskal-Wallis pour la conductivité électrique révèle une différence non significative dans les sols traités et non traité (Figure 1) annexe 3.

III-1-2-le potentiel hydrogène :

Les valeurs du potentiel hydrogène des sols traités et non traité sont présentées dans la figure 8.

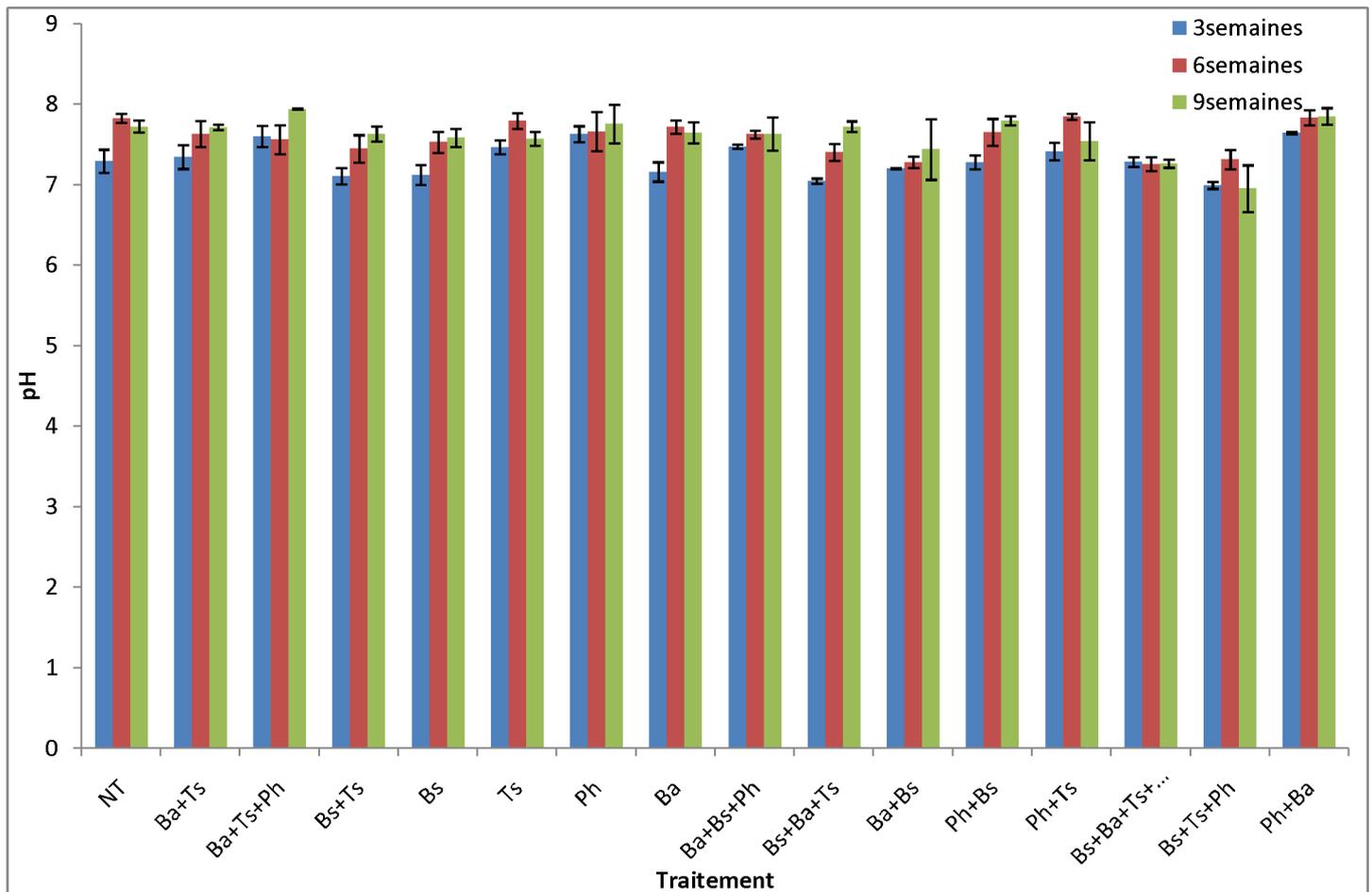


Figure 8 : pH des sols traités et non traité

Après 3 semaines le pH a augmenté dans les sols traités par Ba+Ts+Ph (7,60), Ts (7,46), Ph (7,63), Ph+Ba (7,64) par rapport à celui du sol NT (7,29). Une diminution des valeurs du pH a été notée dans les sols traités avec Bs+Ts (7,10), Bs (7,12), Ba (7,16), Bs+Ba+Ts (7,04), Ba+Bs (7,20) par rapport à la valeur du NT (7,29).

Après 6 semaines, le pH a augmenté dans les sols traités par Ph+Ts (7,84), et Ph+Ba (7,83) par rapport à celui du NT. Une diminution du pH a été observée dans les sols traités avec Bs+Ba+Ph (7,40), Ba+Bs (7,28), Bs+Ba+Ts+Ph (7,25), Bs+Ts+Ph (7,31) par rapport au pH du NT (7,82).

Après 9 semaines, le pH est plus élevé dans le sol traité avec Ba+Ts+Ph (7,94), Ph (7,75), Ph+Bs (7,79), Ph+Ba (7,85) par rapport à celui du NT (7,72). Il est inférieur à celui du NT dans les sols traités avec Bs (7,58), Ts (7,57), Ba+Bs (7,44), Ph+Ts (7,54), Bs+Ba+Ts+Ph (7,26), Bs+Ts+Ph (6,95).

Le test de Kruskal-Wallis pour le pH révèle une différence non significative dans les sols traité et non traité (Figure 2) annexe 3.

III-1-3-Le taux d’humidité hygroscopique du sol :

Les résultats de l’humidité du sol traité et non traité sont présentés dans la figure 9.

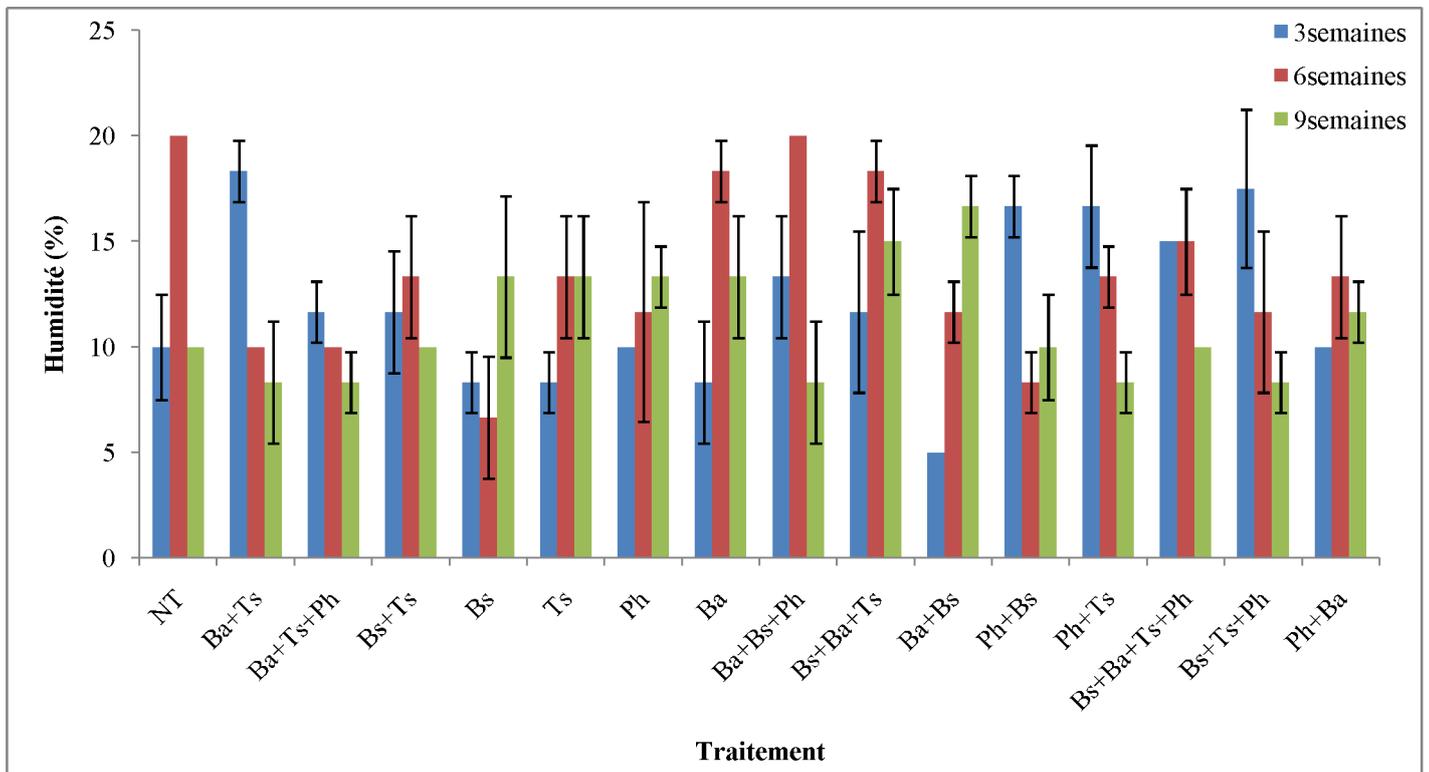


Figure 9 : Humidité du sol traité et non traité.

Les résultats montrent une importante variation de l’humidité pendant la période de traitement. Durant la 3ème semaine nous avons enregistré un taux important d’humidité lors de traitement par la technique Ba+Ts (18.33%), suivi de Bs+Ts+Ph (17,5%), Ph+Bs et Ph+Ts (16,66%) par rapport au sol non traité qui présente une valeur de 10%, ensuite nous remarquons également une légère réduction de l’humidité pour les autres traitements en

comparaison avec le sol non traité est de 10% avec notamment une valeur minimum de l'ordre de 5% pour Ba+Bs.

La figure révèle également, après 6 semaines de traitement, que le sol traité avec Ba+Bs+Ph présente la même valeur que le sol non traité, soit 20%. Cependant nous avons enregistré une réduction d'humidité pour les autres techniques principalement Bs (6,66 %).

Concernant le dernier prélèvement, nous avons constaté une augmentation de l'humidité pour Ts,Ph,Ba (13,33%), Bs+Ba+Ts (15%) et la valeur la plus élevée est de 16,66% pour le traitement Ba+Bs par rapport au sol NT. Pour les autres techniques, nous avons enregistré une diminution plus ou moins faible par rapport au sol NT.

Le test de Kruskal-Wallis pour l'humidité révèle une différence non significative dans les sols traité et non traité (Figure 3) annexe 3.

III-2-Résultats des bio-essais :

III-2-1-Taux de germination :

Les résultats du test de germination sont présentés dans la figure 10.

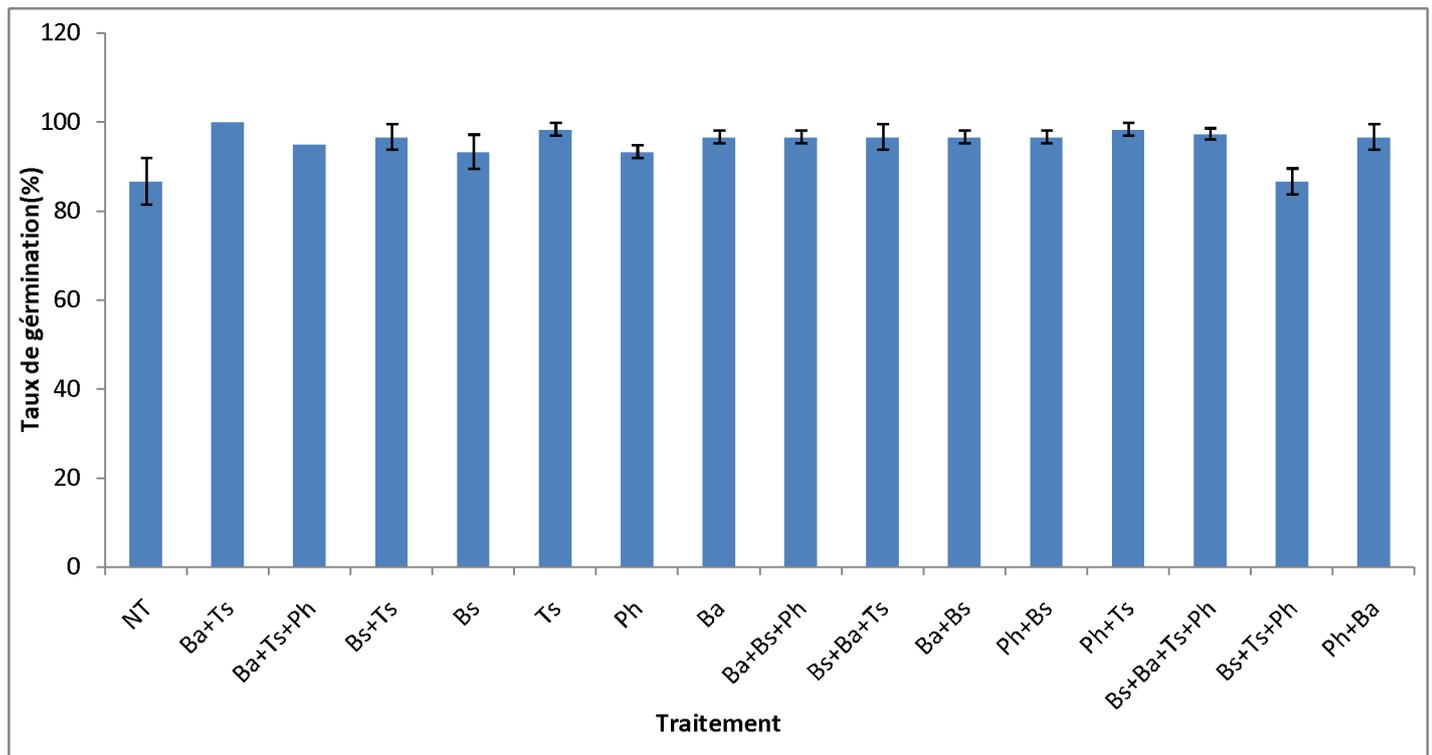


Figure10 : taux de germination dans les sols traité et non traité.

Nous remarquons une augmentation du taux de germination dans les sols traités avec Ba+Ts (100%), Ts (98,33), Bs (93,33), Bs+Ba+Ts+Ph (97,33%) par rapport à celle du sol NT (86,66). La germination a été améliorée par tous les traitements comparée à la germination du maïs dans le sol avant l'application des traitements (10%).

Les résultats du test de Kruskal-Wallis pour le taux de germination montre qu'il y a une différence non significative entre les différents traitements et le sol non traité (Figure 4) annexe 3.

III-2-2- l'élongation racinaire :

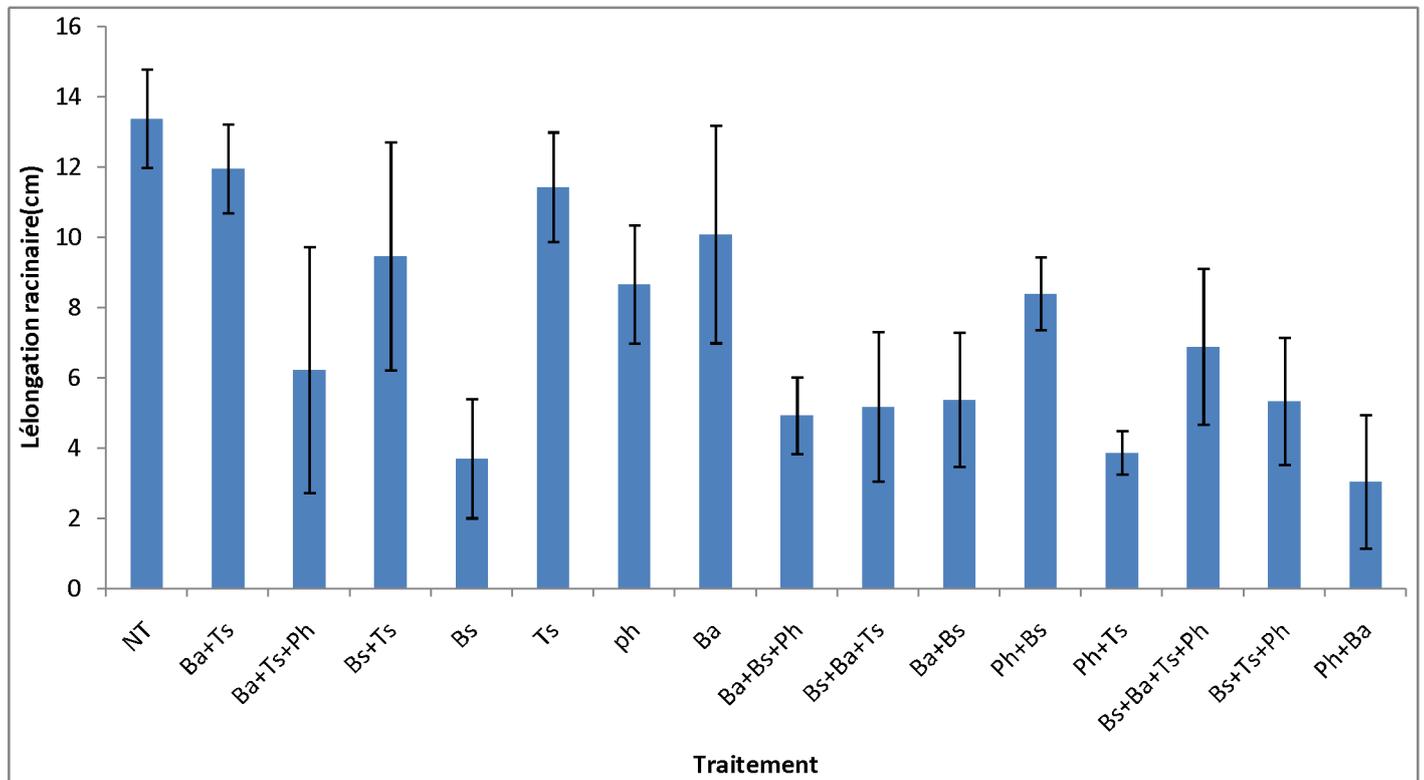


Figure11 : l'élongation racinaire des sols traités et non traité.

L'élongation racinaire dans tous les sols traités est inférieure à celle observée dans le sol NT (13,38). Parmi les traitements appliqués, Ba+Ts a donné la valeur la plus élevée avec 11,95 tandis que Ph+Ts et Ph+Ba ont donné les valeurs les plus faibles avec 3,86 et 3,03 respectivement.

Les résultats de l'ANOVA Pour l'élongation racinaire dans les sols traités et non traité révèlent une différence significative.

Le test de Newman Keuls ressortir 7 groupes homogènes

(Tableau 5, annexe 3).

III-2-3-L'activité biologique globale (respirations) :

Les résultats du test respirométrique exprimé en quantité de CO₂ dégagé dans les différents sols traités et non traité sont illustrés par la figure12.

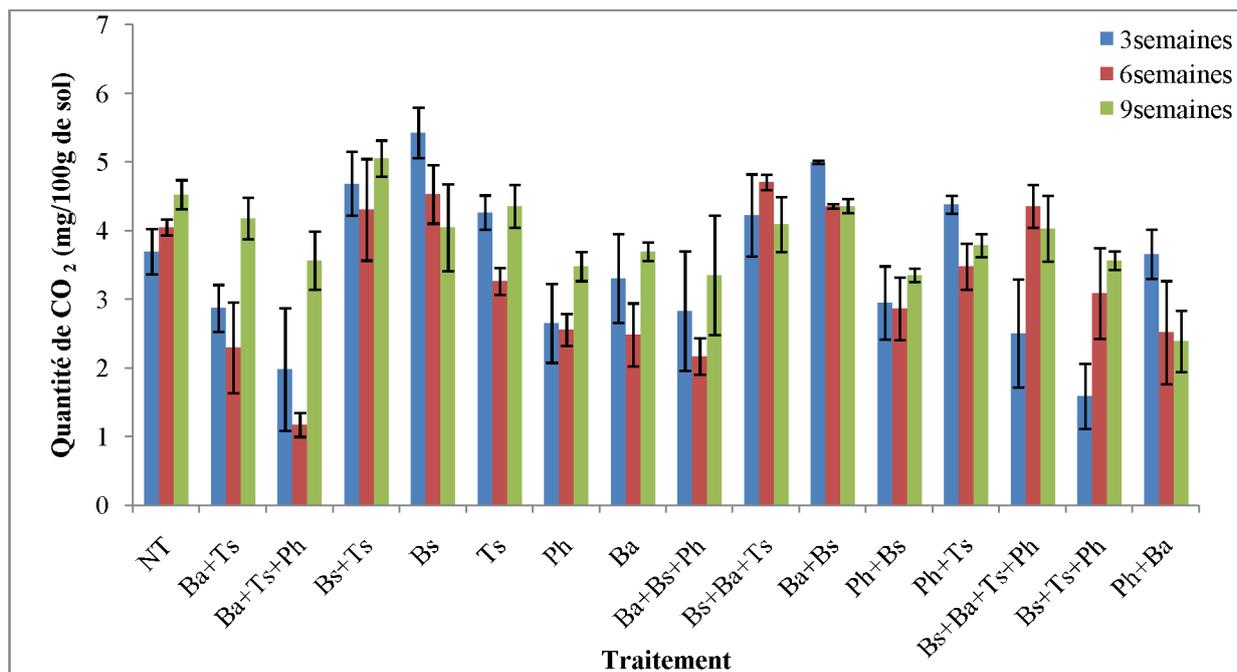


Figure12 : l'activité biologique du sol traité et non traité.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons qu'après la 3^{ème} semaine l'activité biologique augmente dans les sols traités par Bs (5,42 mg/100g de terre), Ba+Bs (5 mg/100g de terre), Bs+Ts (4,68 mg/100g de terre) et Ts (4,26 mg/100g de terre) en comparaison avec le sol non traité (3,7) mg/100g de terre). Une diminution de l'activité biologique a été observée principalement pour les traitements Bs+Ts +Ph (1,59 mg/100g de terre), Ba+Ts+Ph (1,98 mg/100g de terre) et Bs+ Ba+Ts+Ph (2,5 mg/100g de terre) par rapport au sol non traité .

Après 6 semaines, nous avons enregistré une augmentation de la quantité de CO₂ dégagé dans le sol traité par Bs+ Ba+Ts (4,70 mg/100g de terre), Bs (4,53 mg/100g de terre), Ba+Bs et Bs+ Ba+Ts +Ph (4,36 mg/100g de terre), Bs+Ts (4,30 mg/100g de terre) en comparaison avec le sol non traité (4,05 mg/100g de terre). Nous remarquons également une diminution de celle-ci pour les autres traitements par rapport au sol non traité avec une valeur de 3 mg/100g de terre pour Ph+ Ts et de 1,17 mg/100g de terre pour Ba+Ts +Ph .

Au bout de la 9^{ème} semaine, nous avons enregistré une augmentation de 5,05 mg/100g de terre pour le sol traité avec Bs+Ts par rapport au sol non traité est de 4,52 mg/100g de terre. Les autres traitements isolés ou combinés montrent une réduction plus ou moins faible par rapport au sol non traité, atteignant un minimum de 2,39 mg/100g de terre pour Ph+Ba.

Le test de Kruskal-Wallis pour l'activité biologique révèle une différence non significative dans les sols traité et non traité (Figure 6) annexe 3.

III-3-Discussion :

Pour les résultats de la conductivité électrique, nous avons noté une diminution de la CE dans le sol traité par Ph par rapport à celle du sol NT. Ces différences sont non significatives ce qui indique que les différents traitements appliqués au sol contaminé n'ont pas eu d'effet sur la CE. Nos résultats concordent avec ceux de Bourkache et Bousenou (2015). Malgré l'absence de différences significatives, nous avons constaté la diminution de la CE, cela peut être dû à la dégradation des hydrocarbures par la fève. L'augmentation de la CE dans le sol est liée à la présence des hydrocarbures (Chaïneau et al., 1996). La diminution de celle-ci dans les sols traités pourrait donc être corrélée avec la dissipation de ces polluants.

Les résultats obtenus concordent aussi avec ceux de Nait Abdelkader et Djenad (2015) qui ont enregistré l'absence de différences significatives de la CE entre le sol traité par biostimulation et le sol non traité qui serait due à l'utilisation des sels apportés sur le terrain par les bactéries indigènes du sol.

Le pH mesuré dans les sols traités par les associations Ba + Ts + Ph, Ph + Bs, Ph + Ba, et dans le sol traité par Ph est légèrement supérieur au pH du sol non traité. Une légère diminution de pH a été observée dans les sols traités par Ba + Bs, Ph + Ts, Bs + Ts + Ph, Bs+Ba+Ts+ Ph par rapport au sol non traité. Ces différences sont non significatives, ce qui indique que les différents traitements appliqués au sol contaminé n'ont pas eu d'effet sur le pH. Des résultats similaires ont été obtenus par Banouh et Marar (2015) qui ont noté que la bioaugmentation n'a pas eu d'effet sur le pH dans un essai mené au laboratoire. Le sol de la station est un sol limono-argileuse qui retient bien les cations.

Concernant l'humidité du sol, nous avons enregistré une diminution dans les sols traités avec Ba+Ts, Ba+Ts+Ph, Ba+Bst+Ph, Ph+Ts, Bs+Ts+Ph par rapport à la valeur du sol NT. Cette différence peut être due à la dégradation des hydrocarbures. Ce qui laisse supposer qu'il y a une diminution de la quantité de carburants dans ces sols. D'après les résultats d'Ait Tayeb et Titouche (2011) cités par Chibane (2013), la teneur en eau du sol contaminé par les hydrocarbures est beaucoup plus importante que celle du sol non contaminé.

Les résultats du test de germination montrent une augmentation du nombre de graines germées dans les sols traités soit par association des techniques ou par des traitements isolés par rapport à celui du sol non traité. Dans le sol traité par Ba+Ts, le taux de germination a atteint 100%. Les différences n'étaient pas significatives entre les traitements appliqués mais une amélioration de la germination des graines du maïs a été observée dans tous les sols après 9 semaines de traitement. Cette amélioration peut être due à la biodégradation des hydrocarbures après l'ajout de la souche bactérienne *P. aeruginosa* qui est une souche ayant un fort potentiel de dégradation des hydrocarbures. Par ailleurs, l'ajout de rhamnolipides produits par cette même souche aide les microorganismes du sol à dégrader les hydrocarbures en les solubilisant pour les rendre disponibles à la dégradation. Selon Gabet (2004) la présence de tensioactifs mobilise les hydrocarbures fixés sur la phase solide du sol améliorant ainsi leur dégradation. Ceci conduit à l'amélioration de la qualité du sol.

Les résultats obtenus concordent avec ceux de Hadjou et Rabhi (2015) qui ont noté que l'association Ba + Bs n'a pas eu d'effet sur le taux de germination et avec les résultats de Banouh et Marar (2015) qui ont constaté que la Ba n'a pas eu d'effet sur la germination des graines mais que la germination a été améliorée par rapport à celle obtenue dans le sol avant l'application du traitement.

Les résultats de l'élongation racinaire montrent une légère diminution dans les sols traités par rapport à celle du sol NT, ce qui peut être dû à l'amélioration de la qualité du sol par la dégradation naturelle des hydrocarbures qui est probablement effectuée par les bactéries indigènes présentes dans le sol ou par les processus abiotiques. Ces résultats obtenus concordent avec ceux de Mouzarine et Assouan (2009) qui ont trouvé que les résultats l'élongation racinaire étaient différents entre le sol traité et le non traité.

Les résultats des analyses statistiques de l'élongation racinaire montrent une différence significative dans les sols traités et le sol non traité. Nous avons obtenus 7 groupes homogènes où nous trouvons le sol NT (104,8) et Ba+Ts (98,93) dans le même groupe homogène ce qui peut être dû à la dégradation des hydrocarbures par l'atténuation naturelle et l'amélioration de la qualité biologique du sol après traitement avec Ba+Ts ce qui peut être expliqué que la souche bactérienne ajoutée et les biosurfactants sont efficaces pour la dégradation des hydrocarbures.

D'après les résultats de l'activité biologique, nous pouvons déduire que les techniques appliquées dans cette étude n'ont pas eu d'effet sur l'activité biologique du sol. Le seul traitement qui donne de meilleurs résultats est Bs+Ts par rapport au sol non traité, ce qui peut être dû à l'apport des fertilisants (N et P) qui aurait stimulé le processus de biodégradation des carburants et l'ajout des tensioactifs qui aurait amélioré par désorption et solubilisation la biodisponibilité des hydrocarbures et donc l'activité des microorganismes qui ont la capacité de les dégrader.

Huang et al. (2008) ont noté que l'ajout de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et de Na_2HPO_4 a amélioré la dégradation du diesel. De leur côté, Thavasi et ses collaborateurs (2011) ont constaté que l'association de biosurfactants avec les fertilisants a augmenté les taux de dégradation du pétrole brut.

Les autres traitements, notamment la phytoremédiation qui avait amélioré les propriétés du sol contaminé (Bourkache et Boussanou, 2015) n'a pas eu l'effet attendu sur l'activité biologique. Ces résultats rejoignent ceux de Ammouche et Moucer (2015) qui ont noté que la phytoremédiation n'a pas eu d'effet sur l'activité biologique du sol.

Nous avons entrepris un essai de dépollution d'un sol pollué aux hydrocarbures en utilisant diverses techniques biologiques et leurs associations.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons conclure que tous les traitements appliqués, hors mis l'association Bs+Ts, n'ont pas amélioré le rendement de l'atténuation naturelle. Ces traitements n'ont eu aucun effet sur les paramètres physico-chimique du sol (pH, la conductivité électrique et humidité) et sur le taux de germination des graines.

De plus, les différentes techniques de dépollution appliquées ont provoqué une diminution de la toxicité des sols traités sur le terrain, ce qui s'est traduit par l'amélioration du taux de germination.

Selon les résultats obtenus dans le test de l'élongation racinaire nous pouvons conclure que le traitement Ba+Ts et l'atténuation naturelle du sol ont été les plus efficaces dans l'amélioration de la qualité biologique du sol, d'autant plus que la technique Bs+Ts a donné un meilleur résultat de l'activité biologique par rapport aux autres traitements.

A la fin de cette étude et à la lumière des résultats obtenus, nous proposons les perspectives suivantes:

- Une étude approfondie sur le fonctionnement biologique du sol et les différentes relations entre la microflore du sol et les plantes pour l'amélioration de la qualité du sol afin d'avoir une meilleur dégradation des hydrocarbures.
- Répétition de ces essais dans d'autres sites.
- Tester des consortiums de la souche pour optimiser la dégradation.
- Caractériser les hydrocarbures pour étudier la cinétique de leur dégradation.

-A-

Amiri N., 2013. Ecotoxicité des hydrocarbures sur le sol est un essai décontamination. Mémoire d'ingénieur d'état en biologie .UMMTO.54p.

Ammouche N et Moucer N., 2015. Effets des hydrocarbures,aprèsphytoremédiation sur quelques propriétés biologiques (activité globale, biomasse microbiennes), et chimiques (pH et CE) du sol.Mémoire de Master en biologie.UMMTO.25p.

-B-

Bergue J et Mérienne D.,1986 . La pollution des sols par les hydrocarbures. Laboratoire régionale de ROUEN. Réf : 3141. Pp57-66.

Baise D et Bernard J., 1995. Guide pour la description du sol. Edition : INRA, Paris. p 15.

Bento F.M.,Camargo F.A.O., Okeke B.C., Frankenberger W.T.,2005.Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation.BioresourceTechnology.vol : 96 .1049–1055.

Baize D., 2000.guide des analyses en pédologie.2^{ème} édition revue et augmentée.paris.257p.

Belcacec et Rouas., 2012. Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes *vicia fabaL.*et*Trifoliumalexandium L.* Essai de phytoremédiation .Mémoire d'ingénieur d'état en biologie .UMMTO.58p.

Bourkache R et Bousseu N., 2015.Essai de phytoremédiation in-situ et ex-situ d'un sol pollué par les hydrocarbures cas des stations services. Mémoire de Master en biologie .UMMTO.38P.

Banouh A et Marar G ., 2015.Essai de décontamination par bioaugmentation in situ et ex situ d'un sol pollué par les hydrocarbures.cas d'une station service. Mémoire de Master en biologie .UMMTO. 41p.

-C-

Cerniglia C.E., 1992.**Biodegradation** of polycyclic aromatic hydrocarbons .Biodegradation 3.Pp 351-368.

Chaineau C.H., Morel J.L., Oudot J., 1996 .land treatment of oil-based drill cutting in an agricultural soil. Journal of Environment Quality.vol:25.Pp858-867.

Colin F., 2000.Pollution localisée des sols et sous sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés .Edition TEC et DOC. 417p.

Cadiere F., 2006. Traitement biologique des sols pollués : recherche et innovation .Etude réalisée pour le compte de l'ADEME par l'ADIT-Société Nationale d'Intelligence Stratégique Département Sites et sols pollués-Direction Déchets et sols –ADEM(Angers).92p.

Carnicer P et Victoria M., 2007. La pollution ponctuelle des sols : le cas des stations services dans la région de Bruxelles-capitale. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du grade académique de diplôme d'études spécialisées en gestion de l'environnement. 154p.

Colombano S., Saada A.,Guerin V.,Bataillard P.,Bellenfant G .,Beranger S.,HubeD.,Blanc C.,Zornig C et Girardeau I.,2010 .Quelles techniques pour quels traitements-analyse coûts bénéfiques. Rapport final BRGM/RP-58609-FR .399p.

Chibane G., 2013. Caractérisation des hydrocarbures extraits de sols dépollués par la technique de phytoremédiation. Mémoire de Magister en biologie. UMMTO.73p.

-D-

Duchaufour P. ,2001 . Introduction à la science du sol : sol, végétation et environnement.6^{ème} édition. DUNOD.Paris. 331p.

David C., 2013.Risque biologiques et biodépollution des sols. INRS. Département expertise et conseil technique. Prévention des risques biologiques. Hygiène et sécurité du travail .230.Pp11-16.

Dave B. P., Ghevariya C.M., Bhatt J.K., Dudhagara D.R., Rajpara R.K ., 2014.Enhanced biodegradation of total polycyclicaromatichydrocarbons (TPAHs) by marine halotolerant *Achromobacter xylosoxidans*using Triton X-100 and b-cyclodextrin-A microcosmapproach.Marine Pollution Bulletin .79.Pp123-129.

-E-

Encarta., 2009.Hydrocarbures, pollution par les : pollution non marine .encyclopédie. Microsoft Corporation.

-F-

Fezani S et Khider F., 2007. Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes, leurs caractérisations et leurs effets sur la microflore du sol. Mémoire d'Ingénieur d'état en biologie U.M.M.T.O. 73p.

-G-

Gallego J.L.R., Loredó J.,LalamoJ.F.,VazquezF.,Sanchez J.,2001 .Bioremédiation of diesel-contaminated soil:Evaluation of potential in situ techniques bay study of bacterial degradation biodegradation.Vol: 12.Pp325-335.

Glick B.R., 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants andbacteria to clean up the environment. *BiotechnologyAdvances*. 21.Pp383–393.

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 Doctrat. Université de Limoges.177p.

-H-

Huang L., Ma T., Li D.,Liang F., Liu R., Li G., 2008. Optimization of nutrient componet for diesel oil degradation by Rhodococcuserythropolis.Marine pollution bulletin.vol:56.issue10.Pp1714-1718.

Hadjou O et Rabhi S., 2015. Essai de bioremédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par bioaugmentation et biostimulation,Mémoire de Master en biologie .UMMTO.30p.

-K-

Koller E., 2004. Traitement des pollutions industrielles : eau, air, déchets, boues .Edition DUNOD. Paris. 299p.

-L-

Lecomte P.,1998.les sites pollués.Traitement des sols et des eaux souterraines.2^{ème} édition.TEC et DOC.Paris.204p.

Le Corfec Y., 2011. Sites et sols pollués. Edition DUNOD. Paris.407p.

-M-

Marchal R.,Penet S.,Solano-serena SF.,Vandecasteele J.P.,2003.Gasoline and Diesel Oil Biodegradation.Oil et Gras Science and Technology-Rev.IFR.Vol:58 .No 4,Pp441-448.

Mathieu C et Pieltain F., 2003.Analyse chimique des sols .Edition TEC et DOC.385p.

Mouzarine S et Assouan D., 2009.Mise en évidence d'une décontamination naturelle d'un sol contaminé par les hydrocarbures .Mémoire d'ingénieur d'état en biologie. UMMTO.32p.

Magalie C., 2013.Diagnostic de sols pollués par des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) à l'aide de la spectrophotométrie UV.HAL.France.166p.

-N-

Nait abdelkader S et Djenad M.,2015. Essai de la remédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par biostimulation cas des stations-services. Mémoire de Master.UMMTO.28p.

-P-

Patej S., 2002. Etude de scénarios dangereux en stations-service. Rapport final. D'érection des risques accidentels. INERIS. DRA-40862. Pp9-12.

Plaza G A., Łukasik K., Wypych J., Nałęcz-Jawecki G., Berry C et Brigmon R.L., 2008. Biodegradation of Crude Oil and Distillation Products by Biosurfactant-Producing Bacteria. Polish J. of Environ. Stud. Vol. 17, No. 1. Pp87-94.

Pulgarin A., 2012. Méthodes pour la datation des hydrocarbures déversés dans l'environnement. Essai présenté au centre universitaire de formation en environnement. Université de Sherbrooke. 79p.

Picot A et Montandon F., 2013. Ecotoxicochimie appliquée aux hydrocarbures. TEC et DOC. Paris. 668p.

-R-

Rivière J.L., 1998. Les sites pollués : Traitement des sols et des eaux souterraines. TEC et DOC. Paris. 204p.

Rammade F., 1992. Précis d'écotoxicologie. Edition MASSOUN. Paris. 300p.

Rojo F., 2009. Degradation of alkanes by bacteria. Environ. Microbiol. vol. 11. Pp2477-2490.

-S-

Scriban R., 1999. Biotechnologie. TEC et DOC. 1042p.

Saada A., Nowak C., et Coquereau N., 2005. Etats des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures. Rapport intermédiaire. Résultats de la phase 1. Rapport BRGM/RP-53739-FR. 107p.

Silva-Castro G.A., Rodelas B., Perucha C., Laguna J., González-López J., Calvo C., 2013. Bioremediation of diesel-polluted soil using biostimulation as post-treatment after oxidation with Fenton-like reagents: Assays in a pilot plant. Science of the Total Environment. 445–446. Pp 347–355.

Slimani M., 2015. Effet de la concentration du pétrole brut sur la croissance de la fève (*Vicia faba* L.), du pois (*Pisium sativum* L.) et de la luzerne (*Medicago sativa* L.) Essai de phytoremédiation. Mémoire de Master en Biologie. U.M.M.T.O. 53 p.

-T-

Thavasi R., Jayalakshmi S., Banat I.M., 2011. Application of biosurfactant produced from peanut oil cake by *Lactobacillus delbrueckii* in biodegradation of crude oil.

BioresourceTechnology. 102 .Pp 3366–3372.

Triffault-Bouchet G., Gruyer N.,Groleau P.E .,Ouellet A., Dupont F.,2015.

Hydrocarbures pétroliers : caractéristiques, devenir et criminalistique environnementale. CEAEQ .Études GENV222 et GENV23, Évaluation environnementale stratégique globale sur les hydrocarbures. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 41 p.

-Y-

Yin H ., Qiang J., Jia Y., Ye J., H Peng., Qin H., Zhangn N., He B., 2009 .Characteristics of biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* S6 isolated from oil-containing wastewater.ProcessBiochemistry 44.Pp302–308.

-Z-

Zerouki H., et Ouhada M., 2013.Phytotoxicité des hydrocarbures vis-à-vis de la luzerne, du pois et de la fève. Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Biologie. U.M.M.T.O. 56 p.

Annexe 1: Données climatique de la station service de Boukhalfa**Tableau I : Q_2 d'Emberger calculé pour la station (station météorologique de Tizi-Ouzou)**

Région	P (mm)	M (C°)	Q_2
Boukhalfa	875.7088889	24.7568519	75.32589822

Tableau II : Température moyennes et précipitation moyennes pour la station (station météorologique de Tizi-Ouzou)

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
P (mm)	112,16	103,99	103,14	95,29	81,96	10,9	2,79	6,75	43,61	71,22	128,45	115,18
T (°C)	10,31	10,48	13,33	16,16	19,3	23,99	27,84	27,71	23,72	20,92	14,57	12,18

Annexe 2:normes d'interprétation**Tableau I : Normes d'interprétation du pH du sol (Baize, 2000)**

Valeur de pH	Quantification
<4.5	Extrêmement acide
4à5	Très fortement acide
5.1à5.5	Fortement acide
5.6 à6.5	Faiblement acide
6.6 à 7.3	Neutre
7.4à7.8	Légèrement alcalin
7.9 à8.4	Moyennement alcalin
8.5à9	Fortement alcalin
>9.1	Très fortement alcalin

Tableau II : Normes pour la matière organique

Taux en argile en %	Taux souhaitable de matière organique en %
<10	3.5
10à15	2.53
15à20	2-2.5
20à25	2.5
25à30	2.5-3
>30	3-3.5

Tableau III : Normes pour l'azote total du sol(%) (Méthode de kjeldhal).

Taux d'azote	Quantification
<0.5	Très faible
0.05	Faible
0.1-0.15	Moyenne
>0.15	Elevé

Tableau IV : Normes d'interprétation pour le phosphore assimilable (ppm) (méthode Olsen).

Valeur de phosphore	Quantification
0-5	Très basse
5-10	Basse
10-22	Moyenne
>22	Elevé

Tableau V: Norme de la CE (Mahwachi , 2008).

Valeur de CE en (mmhos/cm)	Quantification
0-2	Non salé
2-4	Peu salé
4-8	Salé
8-16	Très salé
>16	Extrêmement salé

Annexe 3 : Résultats des analyses statistiques (les analyses physico-chimiques et les analyses des bio-essais)**Figure1 : la conductivité électrique**

```
Kruskal-Wallis rank sum test  
data: CE3 by trt  
Kruskal-Wallis chi-squared = 23.74, df = 15, p-value = 0.06964
```

Figure 2 : le potentiel hydrogène

```
Kruskal-Wallis rank sum test  
data: pH3 by trt  
Kruskal-Wallis chi-squared = 20.0855, df = 15, p-value = 0.1687
```

Figure 3 : Humidité

```
Kruskal-Wallis rank sum test  
data: hum3 by trt  
Kruskal-Wallis chi-squared = 16.7333, df = 15, p-value = 0.3351
```

Figure 4 : Taux de germination

```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: germ3 by trt
Kruskal-Wallis chi-squared = 19.783, df = 15, p-value = 0.1804

```

Figure 5 : L'élongation racinaire

```

Kruskal-Wallis test's
Ties or no Ties|
Groups, Treatments and mean of the ranks
a      NT      104.8
a      Ba+Ts   98.83
ab     Ts      93.11
abc    Ba      80.22
abcd   Ba+Ts+Ph 78.8
abcd   Bs+Ts   78.5
abcd   Ph      74.17
abcd   Ph+Bs   73
abcd   Bs+Ba+Ts+Ph 58.56
abcd   Ba+Bs   46.94
abcd   Bs+Ts+Ph 46.17
bcd    Bs+Ba+Ts 45.11
bcd    Ba+Bs+Ph 43.67
bcd    Ph+Ts   34.33
cd     Bs      33.11
d      Ph+Ba   28.61

```

Figure 6:L'activité biologique globale (respirations)

Response: rsp3					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
trt	15	16.805	1.12034	1.9045	0.06193
Residuals	32	18.825	0.58827		

Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'efficacité de diverses techniques de bioremédiation par bioaugmentation, biostimulation, phytoremédiation, l'ajout de tensio-actifs et leurs associations sur la décontamination d'un sol pollué par les carburants (essence super et gasoil) sur le terrain.

Sur la base des résultats obtenus, nous pouvons conclure que les différentes techniques de dépollution appliquées provoquent une diminution de la toxicité dans les sols traités sur le terrain, ce qui se traduit par la diminution du pH qui tend à la neutralité et l'amélioration du taux de germination des graines. Le traitement par l'association bioaugmentation+ tensio-actifs a été le plus efficace dans l'amélioration de la qualité biologique du sol, l'association biostimulation+tensio-actifs donne le meilleur résultat de l'activité biologique par rapport aux autres traitements.

Mots clés

Bioaugmentation, biostimulation, phytoremédiation, tensio-actif, pollution, bioremédiation.

Abstract

The objective of our work is to evaluate the efficacy of various bioremediation techniques by bioaugmentation, biostimulation, phytoremediation, the addition of surfactants and their combinations on the decontamination of a soil polluted by fuels (Gasoil) on the ground.

On the basis of the results obtained, we can conclude that the different techniques of depollution applied lead to a reduction of the toxicity in the soils treated in the field, which results in the decrease of the pH which tends to the neutrality and the improvement of the Seed germination rate. Treatment with the combination of bioaugmentation + surfactants was the most effective in improving the biological quality of the soil, the combination biostimulation + surfactants gives the best result of biological activity compared to other treatments.

Keywords

Bioaugmentation, biostimulation, phytoremediation, tensio-actif, pollution, bioremediation.