

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

Comparaison des techniques biologiques
de décontamination d'un sol pollué aux
carburants par le biais de bio-essais

Présenté par : Mme GHERBI Nassima

Mme MEZIANE Kahina

Devant le jury :

Présidente : Mme Ali Ahmed Sadoudi D.

Professeur à L'U .M .M.T.O

Promotrice : Mme Ali Ahmed S.

M.A.A à L'U.M.M.T.O

Examinatrice : Mme Metna F.

M.A.B à L'U.M.M.T.O

29-10-2019

Remerciements

En premier, nous remercions le bon Dieu le Tout Puissant de nous avoir données la santé, le courage et la patience pour être ce que nous sommes aujourd'hui et pour mener à terme ce modeste travail ;

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice Mme ALI AHMED S. Maitre-assistante au département de biologie à l'UMMTO pour ses précieuses orientations, son aide, ses conseils et son souci de réaliser ce travail de recherche ;

Nous adressons aussi nos plus sincères remerciements à la responsable de notre spécialité Biodiversité et Environnement, Mme ALI AHMED-SADOUDI D., Professeur à l'UMMTO.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury, à la présidente Mme Ali Ahmed-Sadoudi D. professeur au département de biologie à l'UMMTO et à l'examinatrice Metna F. MAB au département de biologie à l'UMMTO pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner ce travail.

Nous remercions également l'ingénieur du laboratoire "Pathologie des écosystèmes" Mme ABROUS H. pour son aide et son encouragement tout au long du travail.

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

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 travail et à tous ceux qui nous ont apportées leur aide.

Liste de figures

Fig.1 : Sources de pollution du sol dans une station-service	7
Fig.2 : Composition des carburants, essence (a) et gasoil (b)	8
Fig.3 : Devenir des hydrocarbures dans le sol.....	10
Fig.4 : Dispositif expérimental de la phytoremediation	25
Fig.5 : Dispositif expérimental de la bioaugmentation, biostimulation et le sol traité par la chaleur	25
Fig.6 : Protocole de mesure de la respiration microbienne.....	26
Fig.7 : Protocole de mesure de l'activité de CAT.....	27
Fig.8 : Test de germination	28
Fig.9 : Viabilité des vers de terre.....	28
Fig.10 : Protocole de l'extraction des hydrocarbures résiduels	29
Fig.11 : Production de CO ₂ cumulée.....	30
Fig.12 : Activité de la catalase.....	31
Fig.13 : Taux de germination du maïs dans les différents sols.....	32
Fig.14 : Taux de survie des vers de terre dans les différents sols.....	33
Fig.15 : Quantité des HC dans les différents sols.....	34

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques de l'essence et du gasoil.....	8
Tableau 2 : Différent traitements de bioremédiation	16
Tableau 3 : Différentes techniques de phytoremédiation	17

Table des matières

Introduction générale

Chapitres I : Synthèse bibliographique

1-Pollution du sol	3
1-1-Principaux polluants dans les sols	3
1-2- Définition des hydrocarbures	4
1-3-Classification des hydrocarbures	5
1-3-1-Les hydrocarbures aliphatiques	5
1-3-1-1- Les hydrocarbures aliphatiques saturés.....	5
1-3-1-2- Les hydrocarbures aliphatiques insaturés	5
1-3-2-Les hydrocarbures aromatiques.....	5
1-3-2-1 Les- hydrocarbures aromatiques monocycliques	5
1-3-2-2 -Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs).....	5
1-4-Sources de pollution du sol par les hydrocarbures	6
1-4-1-Sources naturelles.....	6
1-4-2- Sources anthropiques.....	6
1-5-Sources de pollution dans les stations-service	6
1-6-Le devenir des hydrocarbures dans le sol	9
1-6-1-Volatilisation	9
1-6-2- Solubilisation	9
1-6-3-Sorption.....	9
1-6-4-Dégradation.....	9
1-6-4-1-Dégradation abiotique.....	10
1-6-4-2-Dégradation biotique :	10
2- Effets éco-toxicologiques des hydrocarbures	11
2-1-Effet des hydrocarbures sur les plantes	11
2-2-Effet des hydrocarbures sur la faune	11
2-3-Effet des hydrocarbures sur le sol	11
2-4-Effet sur les microorganismes du sol.....	12
2-4 -1-Effets sur la biomasse microbienne	12
2-4-2-Effets sur l'activité microbienne	12

3 -Dépollution des sols contaminés aux hydrocarbures	13
3-1 -Les traitements abiotiques	13
3-1-1-Procédés physiques	14
3-1-2-Les procédés thermiques	14
3-1-3-Les procédés chimiques	14
3-2-Les traitements biotiques	15
3-2-1-Atténuation naturelle	15
3-2-2- Bioremédiation	16
3-2-3-Phytoremédiation	16
4 -Critères d'évaluation de la qualité biologique des sols	18
4-1-L'activité biologique	18
4-1-1-La respiration microbienne	18
4-1-2-La minéralisation de l'azote (N)	19
4-1-3-La nitrification ou dénitrification	19
4-2-L'activité enzymatique	19
4-3- Biomasse microbienne	20
4-4-Le test de germination	20
4-5-Viabilité des vers de terre :	20

Chapitre II : Matériel et méthodes

1-Matériels	22
1-1-Le sol	22
1-2-Matériel végétal	22
1-2-1-Fève (<i>Vicia faba</i>)	22
1-2-2- Maïs (<i>Zea mays</i>)	23
1-3- La souche bactérienne	23
1-4 -Les fertilisants	23
1-5- les vers de terre :	24
2-Méthodes.....	24
2-1 - mise en place de l'essai	24
2-2-Indicateurs biologiques de la qualité du sol	26
2-2-1- Activité biologique globale.....	26
2-2-2- Activité enzymatique	26
2-2-3. Tests d'écotoxicité	27

2-2-3-1-Test de germination	27
2-2-3-2-Viabilité des vers de terre	28
2-3- Dosage des hydrocarbures.....	28
2-4- Analyse statistique des données	29

Chapitre III : Résultats et discussion

1-Résultats	30
1-1-Effet des hydrocarbures sur les paramètres biologiques du sol	30
1-1-1-Résultats du test respirométrique.....	30
1-1-2-Activité de la CAT	31
1-2.Effet des hydrocarbures sur le végétal	32
1-3.Effet des hydrocarbures sur la viabilité des vers de terre	33
1-4-Analyse des HC (Evaluation de la quantité des hydrocarbures totaux)	33
2-Discussion	35

Conclusion

Référence bibliographiques

Annexes

Introduction générale

Les hydrocarbures pétroliers deviennent un problème mondial pour l'environnement, à cause de leur persistance (Hentati et *al.*, 2013). Il cause une modification défavorable du milieu naturel qui apparait en totalité ou en partie comme sous-produit de l'action humaine, au travers d'effets directs ou indirects altérant les critères de répartition des flux d'énergie, des niveaux de radiation de la constitution physico-chimique du milieu naturel et de l'abondance des espèces vivantes (Ramade, 1992).

Afin d'éliminer ou de réduire cette pollution dans le sol, diverses techniques sont applicables. Les techniques physiques, chimiques ou thermiques sont les plus fréquemment utilisées. Elles sont très efficaces pour certains types de contaminants mais présentent l'inconvénient d'être onéreuses et de détériorer le sol. Actuellement, les méthodes biologiques suscitent beaucoup d'intérêt car elles sont économiques, respectueuses de l'environnement et sauvegardent les propriétés du sol (Girard, 2005 ; Koller, 2009).

Parmi ces techniques figurent la biostimulation, qui consiste en une stimulation de l'activité des microorganismes indigènes par adjonction de nutriments (l'azote et le phosphore dans la plupart des cas), la phytoremédiation qui utilise des plantes pour extraire ou éliminer les polluants du sol et la bioaugmentation qui est l'inoculation du sol avec des souches bactériennes capables de dégrader les polluants. Ces techniques visent toutes à augmenter l'atténuation naturelle qui est l'aptitude du sol à s'auto-épurer grâce aux microorganismes indigènes. Concernant la décontamination des sols pollués aux hydrocarbures, plusieurs travaux ont été effectués afin d'évaluer l'efficacité des techniques appliquées par la mesure des paramètres physico-chimiques et biologiques des sols.

Des études de phytoremédiation ont été réalisées à l'UMMTO (Ali Ahmed et Belkaid, 2006 ; Fezani et Khider, 2007 ; Kellas, 2008 ; Belkacem et Rouas, 2012 ; Alilouche et Toudouft, 2014 ; Bourkache et Boussenou, 2015 ; Larabi et Moussi, 2016 ; Belhocine, 2016), D'autres études ont porté sur la biostimulation (Kahil et Issad ,2014) et sur la bioaugmentation (Alik et Belkacem, 2015). Tous ces travaux se sont basés essentiellement sur l'évaluation des paramètres physico-chimiques du sol et rarement sur la mesure des paramètres biologiques. Actuellement, les études s'orientent plus vers la quantification des paramètres biologiques des sols, notamment l'activité enzymatique. (Makhloufi et Matmer ,2018).

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efficacité des techniques de dépollution (phytoremédiation, biostimulation et bioaugmentation) d'un sol contaminé aux hydrocarbures ainsi

que l'atténuation naturelle et le sol traité par la chaleur pour revégétaliser et réhabiliter un site contaminé par les carburants.

Ce travail est subdivisé en trois chapitres. Le premier consiste en un rappel bibliographique sur la contamination du sol par les HC et les méthodes de décontamination. Le deuxième présente l'ensemble du matériel utilisé ainsi que les méthodes adoptées. Dans le troisième seront exposés les résultats obtenus au cours de notre expérience et leur discussion. Le document se termine par une conclusion générale et quelques perspectives.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

La pollution des sols et des sous-sols par les hydrocarbures résulte des conséquences cumulées de diverses activités humaines. Cette contamination trop négligée jusqu'à une époque récente est préoccupante par ces conséquences environnementales, sanitaires et socioéconomiques. Malgré le fait que les hydrocarbures représentent la principale source d'énergie dans le monde, ce sont les polluants les plus dangereux de par leur toxicité, leur persistance dans l'environnement, constituant un véritable risque pour la santé humaine.

1-Pollution du sol :

La dégradation d'un sol correspond à la perte ou à la réduction de ses fonctions (Blum, 1997) et se traduit Principalement par une baisse de sa « qualité », se manifestant par une diminution de ses capacités productives et de ses capacités de régulation environnementale (Lal *et al.*, 1997)

La pollution des sols et des sous-sols résulte des diverses activités humaines (industrielles, agricoles...) cumulées au cours des temps (Jeannot *et al.*, 2001).

Il y a contamination lorsqu'une substance potentiellement dangereuse est introduite artificiellement dans un milieu naturel, qu'elle que soit sa teneur ou lorsqu'elle atteint les valeurs limites fixées par les normes. On distingue deux types de pollution du sol ; la pollution diffuse qui consiste en un déversement continu des polluants dans le temps et dans l'espace (ce type de pollution concerne les pollutions aériennes ou agricoles déversées sur des surfaces étendues) et la pollution ponctuelle qui désigne une pollution présentant en général des concentrations importantes, sur un temps court. Un camion contenant une cuve d'hydrocarbures, accidenté sur une route va déverser une grande quantité d'hydrocarbures sur une courte durée, on peut alors désigner cet exemple comme une pollution ponctuelle. De plus, l'industrie est également une source majeure de pollution ponctuelle.

1-1-Principaux polluants dans les sols :

Les sources responsables de ces pollutions résultent de l'industrie chimique et métallurgique, l'activité pétrolière, la destruction des déchets libèrent des éléments toxique qui polluent les sols (Morel, 2012).

Cette pollution se fait sous forme de rejets directes à partir des sites producteurs, ou bien par retombées aériennes après la dispersion des éléments toxique dans l'atmosphère.

La contamination des sols due à l'activité agricole tel que les produits phytosanitaires (pesticides, engrais), épandages de boues d'épuration et les déchets d'origine industrielle devient aujourd'hui un problème préoccupant. En effet, cela se traduit par des impacts négatifs sur les activités dépendant directement ou indirectement de la terre, mais aussi sur la santé humaine et les écosystèmes.

On peut considérer qu'il y a pollution par les hydrocarbures lorsque l'action de ceux-ci peut être considérée comme néfaste aux conditions de vie de l'Homme directement, ou indirectement, si elle affecte les populations animales et végétales qui lui sont utiles (Bertrand et *al.*, 1972).

L'étude de la pollution des hydrocarbures nécessite des dosages très précis, 200 ppb d'hydrocarbures dans l'eau sont suffisantes pour altérer son odeur. On constate que 10 ans peuvent s'écouler entre un déversement dans le sol et son arrivée dans une nappe aquifère (Bertrand et *al.*, 1972).

L'exploitation des hydrocarbures nécessite et engendre des opération et activités importantes qui perturbent notre environnement provoquant des effets néfastes pour la santé humain (Arbaoui et Affane, 2005)

1-2- Définition des hydrocarbures :

Les hydrocarbures sont des composés organiques dont la formule chimique comprend uniquement des atomes de carbone (C) et d'hydrogène (H), ils ont pour formule brute C_nH_m où « n » et « m » sont deux entiers naturels (Franennec et *al.*, 1998)

Les hydrocarbures constituent la fraction la plus importante d'un brut pétrolier, ils représentent entre 65 et 95 % de la plupart des pétroles bruts. Les composés pétroliers peuvent être classés en quatre familles principales qui sont présentes en proportions variables selon l'origine :

Les hydrocarbures saturés (30 à 70 %) les hydrocarbures aromatiques et poly aromatiques (20 à 40 %) les composés polaires (5 à 25 %) les asphaltènes (0 à 10 %) (Tissot et Welte, 1984).

1-3-Classification des hydrocarbures :

Selon AEHS (1998), Les hydrocarbures peuvent être classés en deux grandes catégories de structures chimiques différentes : les hydrocarbures aliphatiques et les hydrocarbures aromatiques.

1-3-1-Les hydrocarbures aliphatiques :

Ils sont constitués principalement de chaînes carbonées qui peuvent être saturées ou insaturées :

1-3-1-1- Les hydrocarbures aliphatiques saturés :

Ils comprennent les alcanes qui sont des hydrocarbures à chaîne ouverte, linéaires (n-alcanes) ou ramifiés (les plus abondants sont les *iso*-alcanes qui ont un groupement méthyle en position 2) ne comportant que des liaisons simples, de formule brute C_nH_{2n+2} (Jourdain et Charissou, 2007), et les cycloalcanes qui renferment des composés cycliques saturés (à 5 ou 6 atomes de carbone) (Soltani, 2004).

1-3-1-2- Les hydrocarbures aliphatiques insaturés :

Ils comprennent les alcènes de formule générale C_nH_{2n} , portant une double liaison et les alcynes de formule générale C_nH_{2n-2} avec une triple liaison (Karg, 2001 *in* Oultaf, 2015)

1-3-2- Les hydrocarbures aromatiques :

Ils ne comprennent que des hydrocarbures insaturés, ce sont les hydrocarbures aromatiques monocycliques et les hydrocarbures aromatiques polycycliques.

1-3-2-1- Les hydrocarbures aromatiques monocycliques :

Ils sont composés uniquement de carbone et d'Hydrogène et ils renferment un anneau de benzène. Ce sont les BTEX qui correspondent au benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (Saada *et al.*, 2005).

1-3-2-2- Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) :

Ce sont des composés organiques aromatiques hydrophobes fréquemment retrouvés dans l'environnement ; ils sont constitués d'atomes de carbone et d'Hydrogène formant au moins deux anneaux aromatiques condensés. Les HAPs sont des constituants naturels du charbon et du pétrole, ils peuvent être également générés pendant la pyrolyse ou la combustion incomplète de matières organiques (Doornaert et Pichard, 2005).

1-4-Sources de pollution du sol par les hydrocarbures :

La principale source actuelle des hydrocarbures est le pétrole, la seconde source est le charbon. Le gaz naturel que l'on peut rattacher au pétrole brut par leur origine géologique, constitue lui aussi une ressource importante en hydrocarbures (Ould rabah., 2012)

Les hydrocarbures sont des polluants qui atteignent l'environnement de multiples sources : des sources naturelles et des sources anthropiques.

1-4-1-Sources naturelles :

Les feux de forêt et de prairie sont considérés comme les processus les plus importants qui génèrent des hydrocarbures. Mais, il existe d'autres processus tels que les éruptions volcaniques, l'érosion des roches, ainsi que la production d'hydrocarbures par les végétaux supérieurs (cires) ou par les algues (Jumeau, 1999).

1-4-2- Sources anthropiques :

Les activités des secteurs énergétiques (production d'hydrocarbures) et industriels (Pimsee, 2014).

1-5-Sources de pollution dans les stations-service :

Les stations-service se définissent comme l'ensemble des installations et des activités destinées à stocker et à transférer les hydrocarbures. Dans une station-service, les carburants tels que l'essence, le diesel et le LPG sont stockés et vendus. Parmi ces carburants, seuls l'essence et le diesel peuvent provoquer une pollution du sol et/ou des eaux souterraines. L'essence et le diesel sont des mélanges complexes qui se composent principalement d'hydrocarbures aliphatiques et aromatiques. En outre, divers additifs sont ajoutés pour améliorer les propriétés techniques des carburants. (Bofas, 2004).

Les stations-service sont une source importante de la pollution du sol, elle se décline en deux catégories : d'un côté, une pollution chronique se produit sur une longue période et étant due le plus souvent à la corrosion des cuves et des canalisations enterrées, de l'autre côté la pollution accidentelle due aux fuites des carburants des réservoirs de stockage, des installations de distribution et de diverses opérations industrielles (Patej, 2002). Cette pollution est susceptible d'entraîner une bioaccumulation dans la chaîne alimentaire, en présentant des toxicités pour le végétal, l'animal et des risques pour la santé humaine (Soltani, 2004).

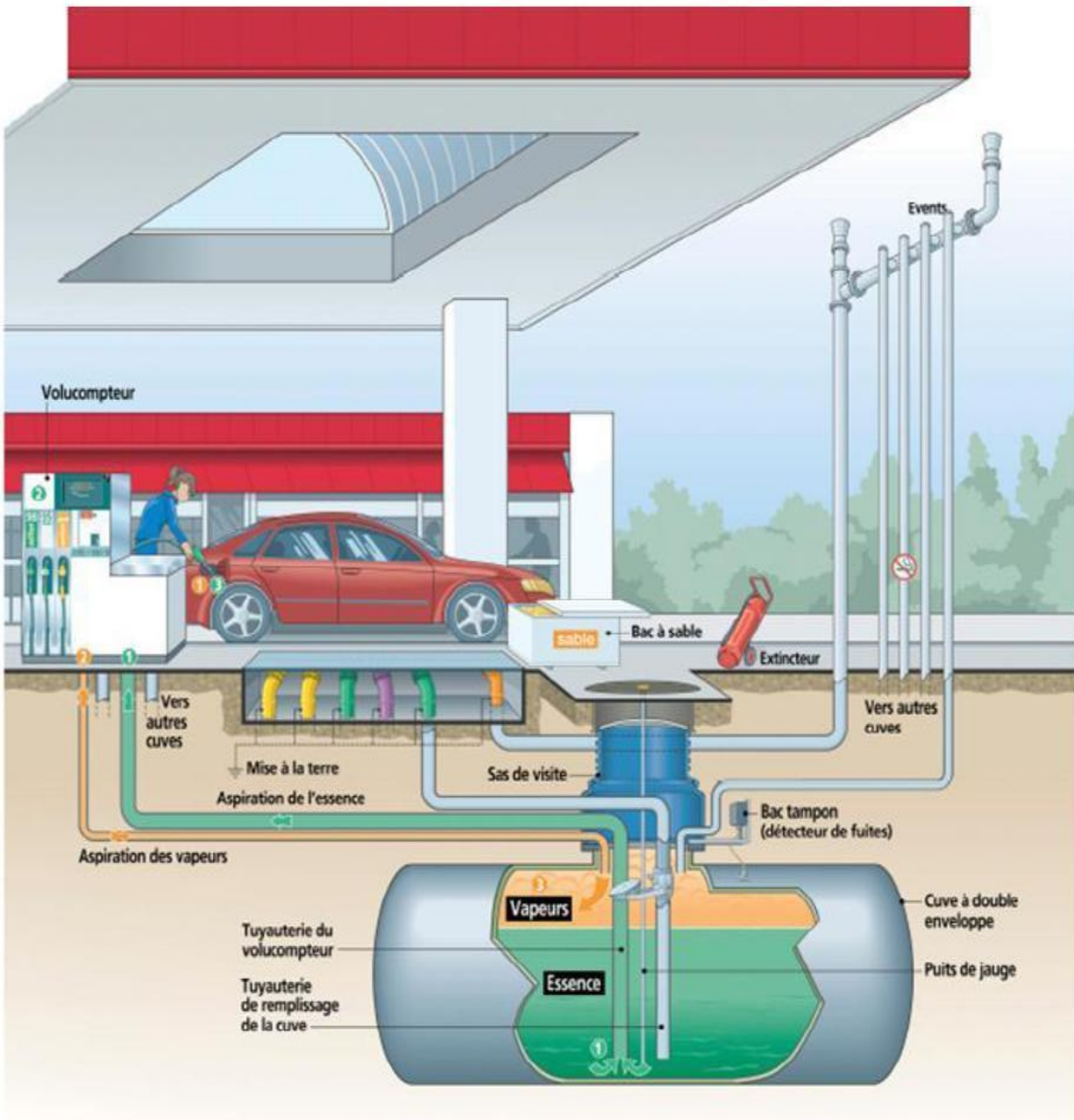


Fig. 1: Sources de pollution du sol dans une station-service (Carnicer, 2007)

➤ Principaux polluants du sol dans les stations-services :

Tableau 1 : Caractéristiques de l'essence et du gas-oil.

Essence	Gas-oil
<ul style="list-style-type: none"> -Mélange d'hydrocarbures, auxquels peuvent être ajoutés des additifs. - Contiennent environ 230 HC différents, $4 < \text{nombre d'atomes de C} < 10$. - Distillation est effectuée à $30^\circ < T^\circ < 35^\circ$ et $180^\circ < T^\circ < 200^\circ$. -Densité moyenne de 0.72 à 0.77 (Marchal et al., 2003). - Composées de cinq classes principales d'hydrocarbures (Fig. 2a). 	<ul style="list-style-type: none"> -Mélange complexe, se compose principalement d'hydrocarbures aliphatiques (Nwinyi et al., 2014). -Contiennent 2000 à 4000 HC différents, $11 < \text{nombre d'atomes de C} < 25$. - Distillés à $180^\circ < T^\circ < 380^\circ$. -Densité de 0.82 à 0.86. - Plus lourds que les essences, composés de produits moins volatiles (Saada et al., 2005). - Composés de 3 classes d'hydrocarbures (Fig. 2b).

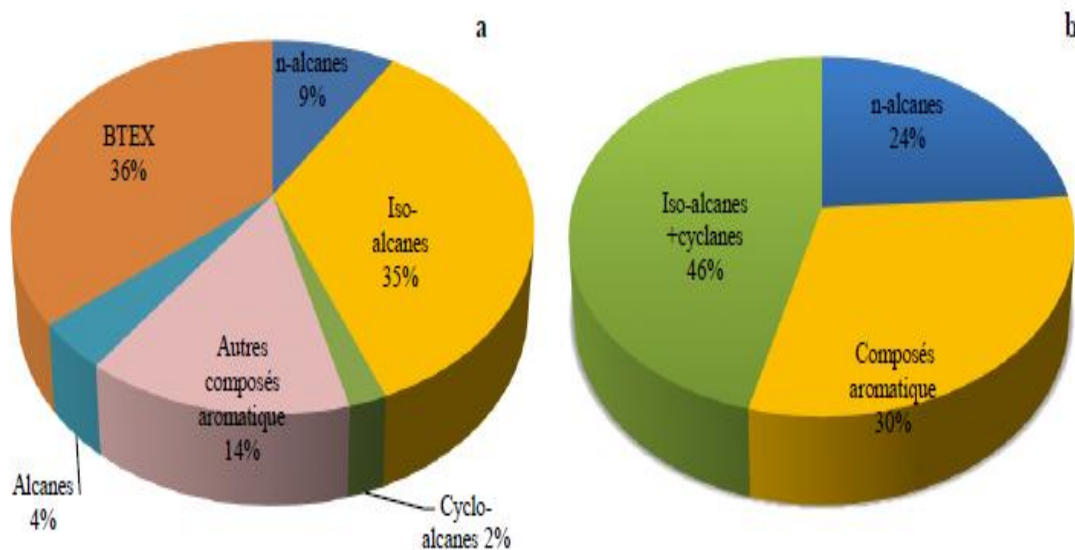


Fig. 2: Composition des carburants, essence (a) et gasoil (b) (Marchal et al., 2003)

1-6-Le devenir des hydrocarbures dans le sol :

Le comportement et le devenir des hydrocarbures dans l'environnement dépendent de leurs propriétés chimiques et physiques et de la nature du sol, une fois arrivés au sol ils peuvent subir des dégradations abiotiques et des transformations biotiques liées aux micro-organismes des sols (Gabet, 2004).

C'est par des processus physiques, chimiques et biologiques qu'un hydrocarbure va pouvoir être déplacé, transformé ou éliminé, après avoir été réparti dans l'environnement. Parmi eux, l'adsorption, la volatilisation, la dégradation abiotique (chimique ou photochimique) ainsi que la biodégradation biotique (Fattal, 2008).

1-6-1-Volatilisation :

Les composés légers se volatilisent et deviennent très mobiles. Les hydrocarbures les plus légers sont éliminés rapidement dès les premiers jours, pouvant conduire à une pollution de l'atmosphère (Soltani, 2004).

1-6-2- 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 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 par la faune et la flore (Chocat, 2004).

1-6-3-Sorption :

C'est la capacité de certains corps solides de retenir les molécules d'autres corps (à l'état gazeux ou liquide) à leur surface. Selon Saada *et al.* (2005), les milieux riches en MO et/ou en minéraux fins (granulométrie < 2 µm) sont les plus favorables à ce mécanisme. Dans le cas des HAP, elle peut avoir lieu sur toutes les surfaces des différentes phases solides du sol minime sur les particules minérales, et très importante sur la MO (Murphy *et al.*, 1990).

1-6-4-Dégradation

C'est un processus essentiel dans la dissipation d'un produit par sa transformation. Elle influe sur la persistance et les possibilités de contamination. Ce processus peut entraîner une dégradation totale du produit ou simplement former des produits intermédiaires de dégradation (Gendrault, 2004).

1-6-4-1-Dégradation abiotique :

Selon Saada *et al.* (2005), la photolyse, les réactions d'oxydo-réduction et l'hydrolyse sont les processus principaux à l'origine de la dégradation abiotique de polluants.

- La photolyse est la décomposition chimique (oxydation) de substances sous l'action de la lumière. Elle provoque des pertes de chaînes aliphatiques.
- Les réactions d'oxydo-réduction abiotiques peuvent avoir lieu dans les sols selon la nature du polluant et les conditions redox du milieu. Elles mettent en jeu des couples redox sans intervention biologique.
- L'hydrolyse a lieu dans les phases aqueuses des milieux, il s'agit de l'action de l'eau sur les hydrocarbures.

1-6-4-2-Dégradation biotique :

La biodégradation des hydrocarbures par les microorganismes appelés hydrocarbonoclastes, c'est l'un des premiers mécanismes conduisant à l'élimination des hydrocarbures dans l'environnement (Soltani, 2004). Selon Saada *et al.* (2005), la biodégradation des hydrocarbures est importante lorsque le nombre d'atomes de carbones de la molécule est faible.

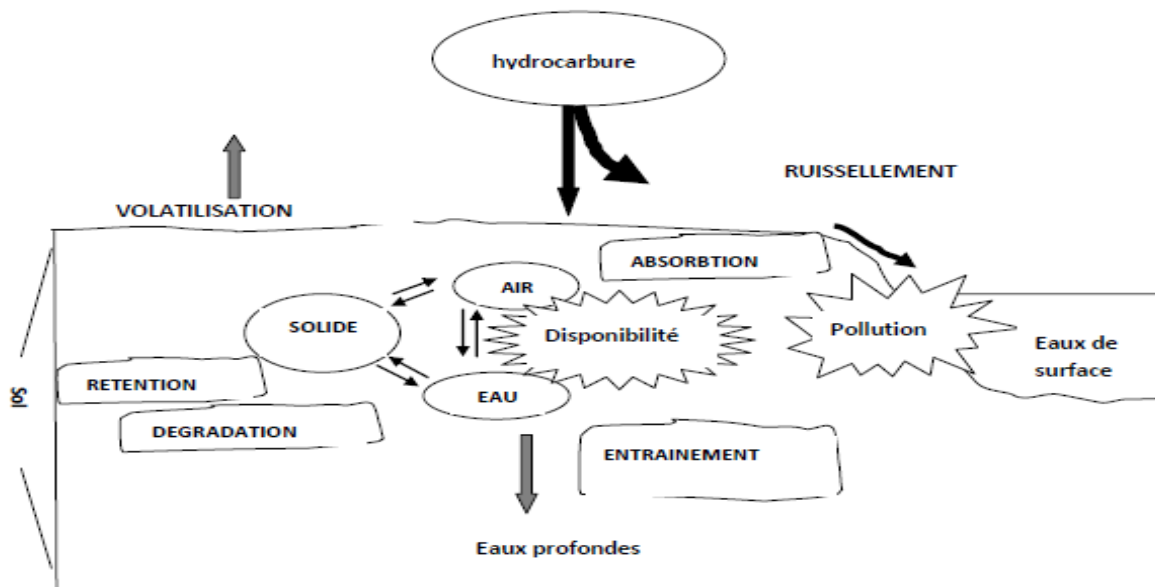


Fig. 3: Devenir des hydrocarbures dans le sol. Adaptation de la figure **proposée** pour les pesticides par Barriuso *et al.* (1996).

2- Effets éco-toxicologiques des hydrocarbures :

2-1-Effet des hydrocarbures sur les plantes :

Les hydrocarbures inhibent le développement et la multiplication de certains végétaux d'où le terme de «phytotoxicité » des hydrocarbures. Cette dernière se manifeste par une inhibition de la germination des graines. La dégradation des hydrocarbures provoque une immobilisation de l'azote contenu dans le sol, ce qui induit une réduction de la croissance des plantes et des rendements (Koller, 2004).

Les HAPs agissent également en pénétrant dans la plante, en diminuant l'efficacité d'utilisation de l'eau et des nutriments et en inhibant l'activité photosynthétique et la chaîne de transport d'électrons (Calabrese et Blain, 2009).

Plusieurs études ont démontré que la présence d'agents toxiques dans le milieu de croissance d'une plante menait à une diminution de la biomasse des racines, à une diminution de la longueur/taille des racines, des tiges, et des feuilles et une sénescence prématurée des feuilles .

2-2-Effet des hydrocarbures sur la faune :

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

Les effets écotoxiques de la pollution par les carburants se traduisent par des altérations biologiques tant aux niveaux moléculaires que populationnels. L'augmentation de l'activité des microbes anaérobies suite à un déversement des HC (gas-oil) augmente le stress pour les organismes vivants et la faune du sol tel que les vers de terre (Andreoni et *al.*, 2004 ; Alrumman et *al.*, 2015), les nématodes (*Rhabditis spp* et *Xiphinema spp*) et les arthropodes (Hamdi et *al.*, 2007). Contrairement aux collemboles et gastéropodes qui ont un fort caractère d'adaptation vis-à-vis des HC, ils sont souvent utilisés comme des bioindicateurs (Bachelier, 1978 ; Amireche, 2012).

2-3-Effet des hydrocarbures sur le sol :

D'après Rouquerol *et al.* (1987), les hydrocarbures enrobent les particules minérales du sol et assurent leur dispersion. Par ailleurs la présence des hydrocarbures dans le sol accroît son pouvoir de rétention en eau (Degranges *et al.*, 1977). Ils provoquent également une augmentation de la conductivité électrique ainsi qu'une augmentation de la concentration des éléments à l'état de trace tels que le manganèse, le zinc et le fer dans le sol (Degranges *et al.*, 1977). Ils conduisent à une

diminution du pH du sol et de la teneur en potassium, calcium, phosphore ; et à une augmentation en carbone organique total (Degranges *et al.*, 1977; Chaineau *et al.*, 1996). L'imprégnation des sols en hydrocarbures a pour effet global une multiplication intense de la microflore adaptée (Degranges *et al.*, 1977 ; Rouquerol *et al.*, 1987).

2-4-Effet sur les microorganismes du sol :

L'imprégnation des sols en hydrocarbures a pour effet global une multiplication intense de la microflore en particulier des champignons, des bactéries et des levures (Rouquerol *et al.*, 1987).

D'après Demuysère (2011), la présence d'hydrocarbures dans les sols a un effet inhibiteur de la luminescence de bactéries. La souche bactérienne *Photobacterium phosphoreum* est inhibée par une contamination élevée d'hydrocarbures pétroliers (4.75 g. kg⁻¹ sol sec) ou d'une contamination de produits pétroliers bruts. Le suivi de la bioremédiation de ces sols contaminés a montré une diminution de la toxicité de sols contaminés sur les microorganismes.

2-4-1-Effets sur la biomasse microbienne :

Selon Rouquerol *et al.* (1987), la croissance de la biomasse microbienne est sensible aux pollutions aux HC : celle-ci est, en effet, inhibée en présence de fortes concentrations d'HC (diesel, gas-oil, pétrole brut, etc.). La biomasse diminue dans des sols moyennement ou fortement pollués par des HC. Il a également été observé une biomasse microbienne plus élevée dans des sols contaminés que dans les sols non contaminés (Dawson *et al.*, 2007). Quant à l'ajout d'amendements organiques (fertilisants, nutriments, etc.), il tend généralement à stimuler la biomasse. Ainsi, la biomasse diminue suite à une contamination aux HC, mais elle augmente de manière significative après l'application d'amendements organiques pour les traitements biologiques (Demuysère, 2011).

2-4-2-Effets sur l'activité microbienne :

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

La respiration microbienne est plutôt stimulée par la présence d'hydrocarbures. Elle semble augmenter avec de faibles ou fortes concentrations de n'importe quels HC. Ceci peut s'expliquer par la résistance de certains microorganismes, responsables de la dégradation de ces composés, à la toxicité des hydrocarbures.

L'ajout d'amendements organiques et de fertilisants lors d'une bioremédiation augmente également la respiration microbienne que ce soit des contaminations aux HAP, diesel (Margesin et *al.*, 2000a ; Tejada et *al.*, 2008). Ceci peut s'expliquer par la stimulation de la croissance microbienne due aux substrats ajoutés lors des amendements organiques au sol (Tejada et *al.*, 2008). Cependant, la respiration microbienne n'est pas toujours significativement augmentée par les traitements biologiques dans des sols contaminés par des HC (Dawson et *al.*, 2007).

3 -Dépollution des sols contaminés aux hydrocarbures :

Les traitements de dépollution disponibles pour les sols pollués par les HC sont généralement plus nombreux, parmi eux les techniques de traitement thermiques et physicochimiques qui sont les plus répandues, elles sont coûteuses et écologiquement invasives, tandis que les procédés de traitement biologiques moins coûteuses et respectueuses de l'environnement (Khan et *al.*, 2013).

Les techniques de dépollution peuvent être mises en œuvre, selon le lieu où doit s'effectuer la dépollution, soit *in situ*, c'est-à-dire sans excavation des sols (bioventing, biosparging), soit sur site après excavation et préparation d'une aire étanche de traitement ou mise en route d'unités de traitement mobile (andains, biopiles, landfarming), soit hors site, en raison d'un risque pour le voisinage ou d'un besoin immédiat du site, dans des unités de traitement ou de stockage de grande capacité (bioréacteur) (Lecomte, 1998).

Le traitement *in situ*, s'il est plus facile d'application puisqu'il ne nécessite pas de transport des sols et permet de traiter des zones difficilement accessibles, peut se révéler plus délicat en ce qui concerne le suivi de la dépollution et l'ajout de nutriments, d'oxygène ou de biomasse. Et très souvent, le couplage avec d'autres techniques physiques ou chimiques complète la biodégradation et permet d'atteindre un bon rendement de dépollution à des coûts et des délais modestes.

Deux types de traitements sont possibles ; les traitements abiotiques et les traitements biotiques.

3-1 -Les traitements abiotiques :

Les techniques de traitement de sites et de sols pollués sont souvent complexes et coûteuses. Le traitement implique presque toujours la mise en œuvre simultanée ou successive de plusieurs procédés. On peut établir une classification de ces techniques selon le type de matrice et le but recherché, soit récupérer le polluant, soit le détruire.

3-1-1-Procédés physiques :

Les techniques physiques constituent la grande majorité des techniques mises en œuvre aujourd'hui ; elles consistent dans leurs principe à transférer et concentrer la pollution vers des points de récupération sans les modifier ou les détruire, en se servant pour leurs transports des fluides présents dans le sol ou injectés. Les procédés d'extraction, de lavage et de confinement sont les plus souvent utilisés (Colin, 2000).

Elles présentent l'inconvénient de disperser les polluants et une législation très stricte d'où la difficulté de mise en œuvre.

3-1-2-Les procédés thermiques :

Ils représentent une option majeure dans les filières de décontamination (Lecomte, 1998). Ils sont essentiellement employés en ex-situ pour la décontamination des sols pollués par les matières organiques facilement oxydables et largement convertibles en CO₂ et H₂O. Les plus adaptées sont : la désorption thermique, L'incinération (Koller, 2009).

L'incinération se réalise en deux étapes ; une première à 400°C, dite de volatilisation et une seconde dite de destruction à une température supérieur à 1000°C. L'incinération est la seule technique qui détruit réellement les polluants. Cependant, cette technique est extrêmement coûteuse et les fumées toxiques qui se dégagent lors de la combustion nécessitent d'importants traitements qui engendrent des surcoûts (Gabet,2004).

3-1-3-Les procédés chimiques :

Les méthodes chimiques telles que l'oxydation ou la neutralisation ont pour but de détruire les polluants ou de les transformer en une forme moins nocive pour l'environnement, en provoquant des réactions chimiques entre le polluant et le réactif ajouté. Ils peuvent être applicables *in-situ* ou après excavation des sols (Balleriniet Vandecasteele, 1999).

La majorité des procédés de traitements chimiques exigent que les sols soient sous forme de boues où les contaminants soient mobilisés dans un milieu liquide (Gabet, 2004).

Toutefois, les oxydants ont une durée de vie très courte, ce qui demande parfois une quantité importante de ces réactifs chimiques. Le fait d'injecter sous pression des produits liquides et gazeux dans le sol crée des chemins préférentiels, ce qui limite parfois la possibilité de contact des oxydants avec les polluants. De plus, il est parfois possible que les réactifs déplacent la contamination dans un milieu qui au départ n'était pas contaminé. La matière organique présente

naturellement dans les sols peut être affectée, de même que les propriétés chimiques, physiques et biologiques du sol. Il est donc primordial de bien analyser les réactions possibles du sol avec les réactifs chimiques utilisés avant de procéder au traitement.

3-2-Les traitements biotiques :

Les techniques biologiques de dépollution des sols sont nombreuses. Selon la nature de la pollution à traiter, elles sont mises en œuvre seules ou combinées à d'autres procédés, physiques, chimiques, thermiques ou biologiques, on peut citer les techniques de bioremédiation qui utilisent essentiellement des bactéries et les techniques de phytoremédiation qui exploitent les propriétés des végétaux (plantes, arbustes, arbres). (L'ademe, 2006)

Pour la dégradation des hydrocarbures, différents micro-organismes sont utilisés tels que *Arthrobacter*, *Novocardia* ou *Pseudomonas*. Si la flore locale est inadaptée à la dégradation des polluants ou est peu abondante, des souches bactériennes performantes allochtones peuvent être ajoutées au sol (Colin, 2000).

L'intérêt d'une méthode se mesure à son efficacité, à son coût, à la facilité de sa mise en œuvre, à la qualité du sol obtenu après traitement ainsi qu'à la facilité de retraitement des sous-produits générés (Ballerini et Vandecasteele, 1999).

La technique de dépollution ne doit pas être plus polluante que le résultat de la pollution (Lecomte, 1995).

3-2-1-Atténuation naturelle :

C'est un processus se produisant naturellement dans les sols et les eaux souterraines sans intervention humaine. Elle vise à réduire la masse, la toxicité, la mobilité, le volume, ou la concentration de polluants. Les processus impliqués sont la dispersion, la dilution, la volatilisation, l'adsorption, les mécanismes (physiques, chimiques ou biologiques) de stabilisation ou de destruction des polluants (dégradation biotique par des bactéries autochtones ou abiotique) (Adem, 2006).

C'est une biodégradation intrinsèque est proposé comme une pratique «rentable» optimale à faible risque (Romaniuk et *al.*, 2007).

L'atténuation naturelle offre plusieurs avantages, c'est un processus bien moins coûteux que les traitements actifs, sanitaire elle limite le contact des opérateurs avec les polluants et on évite l'excavation et le transport des terres et ne génère aucun déchet qui perturbe l'environnement.

3-2-2- Bioremédiation :

La bioremédiation est basée sur l'utilisation de souches microbiennes (bactéries et /ou champignons). Elle consiste à utiliser ces organismes pour transformer des substances chimiques toxiques en substances non toxiques (Abdely, 2006)

Les microorganismes sont capables de dégrader efficacement des polluants comme les produits pétroliers, les huiles et les graisses, les hydrocarbures mono et poly cyclique. En plus d'éliminer les composés ayant des effets néfastes pour l'environnement cette technique permet de diminuer les couts d'assainissement. (Ould rabah, 2012)Elle présente l'avantage d'être un processus naturel, qu'il est souvent réalisé sur place et moins coûteuse. Les différentes technologies utilisées dans la bioremédiation sont résumées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Différent traitements de bioremédiation (Vidali, 2001)

Techniques	Principe
Bioaugmentation	Addition d'une culture des bactéries dans le milieu contaminé. Utilisée couramment dans les bioréacteurs et le système <i>ex-situ</i> .
Biofiltration	Utilisation d'un bio filtre pour traiter les émissions gazeuses.
Biostimulation	Stimulation des populations de micro-organismes indigènes, présente dans le sol ou les eaux souterraine, elle peut être utilisée <i>in-situ</i> ou <i>ex-situ</i> .
Bioréacteurs	Déroulement de la biodégradation dans des réacteurs ou bassins.
Biolixiviation	Excavation de la couche à dépolluer, son emballage dans une membrane étanche l'apport des nutriments indispensable aux microorganismes et sol ainsi traité. Utilisée pour la dépollution des métaux non dégradables.

3-2-3-Phytoremédiation :

Selon Pilon-Smits (2005), la phytoremédiation est l'utilisation des plantes et des microorganismes qui leurs sont associés pour remédier à la pollution de l'environnement. C'est donc un ensemble de techniques *in situ* misant sur les plantes pour extraire, dégrader ou immobiliser les contaminants dans les sols, les sédiments, les boues ainsi que dans l'eau de surface ou souterraine et dans l'air.

La phytoremédiation offre plusieurs avantages qui font d'ailleurs son succès. C'est une technique peu coûteuse (10 à 100 fois moins que d'autres procédés de dépollution) ; (Illovic et *al.*, 2012).

Selon Lecomte (1998), la phytoremédiation est la méthode la moins destructrice car elle utilise des organismes naturels et préserve l'état naturel de l'environnement contrairement à l'emploi de procédés chimiques, il n'y a donc pas d'impacts négatifs sur la fertilité des sols et les végétaux produits peuvent être exploités.

Tableau 3 : Différentes techniques de phytoremédiation :

Mécanismes de la phytoremédiation	Principe
Rhizofiltration	Utilisation des racines des plantes pour absorber, concentrer ou précipiter les polluants d'un effluent liquides (Koller, 2004).
Phytoextraction	Utilisation des plantes accumulatrices sur les sols contaminés pour extraire, transporter et concentrer les polluants 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).
Phytostabilisation	Limitation de la disponibilité des métaux lourds transitant au sein du sous-sol (notamment grâce au transfert via la nappe phréatique) en les piégeant dans un réseau racinaire où ils peuvent s'accumuler et être ainsi immobilisés (Lecomte, 1998).
Phytotransformation	Transformation des composés organiques du polluant au moyen de réactions biochimiques engendrées par les nombreuses enzymes contenues dans les plantes. Elle favorise la dégradation des molécules organiques complexes en composés plus simples qui seront intégrés dans les tissus végétaux. Généralement, elle concerne les polluants facilement biodégradables (Lecomte, 1998).
Phytovolatilisation	stimulation de la volatilisation au moyen des plantes qui absorbent les polluants puis les éliminent par transpiration (Delage et Schrefler, 2005).

Phytostimulation	<p>Utilisation des plantes pour stimuler les micro-organismes présents dans la rhizosphère, engendrant ainsi une activité biodégradatrice plus élevée (Delage et Schrefler, 2005).</p> <p>Elle ne met pas vraiment en contact les polluants et les végétaux. Il s'agit en fait d'une stimulation de la dégradation microbienne et fongique par les enzymes libérés dans la rhizosphère racinaire, ce qui entraîne la destruction des polluants organiques présents (Lecomte, 1998).</p>
------------------	---

4 -Critères d'évaluation de la qualité biologique des sols :

Pour évaluer la capacité d'un sol à fonctionner en continu dans le temps comme un système dynamique et vivant, il existe des indicateurs de qualité des sols de type « physique » (texture, densité) et « chimique » (MO, pH, C, N, P) (Doran et Safley, 1997), ainsi que des indicateurs de type « biologique » (activité biologique, biomasse microbienne, activité enzymatique, germination et élongation racinaires), qui sont plus dynamiques et sujets au changement à court terme, et par conséquent plus aptes à interpréter la qualité d'un sol (Bastida et *al.*, 2008).

4-1-L'activité biologique :

4-1-1-La respiration microbienne :

La respiration microbienne est plutôt stimulée par la présence de contaminants aux hydrocarbures. Elle semblait augmenter avec de faibles ou fortes concentrations et n'importe quels hydrocarbures : diesel (Margesin et al., 2000a; Labud et al., 2007; Pena et al., 2007), HAP (Margesin et al., 2000a; Maliszewska-Kordybach et Smreczak, 2003a), pétrole brut (Labud et al., 2007), gazoline (Labud et al., 2007; Tejada et al., 2008). Cette stimulation de la respiration peut s'expliquer par la résistance de certains microorganismes, responsables de la dégradation des composés, à la toxicité des hydrocarbures, ou bien à la minéralisation de cellules microbiennes n'ayant pas survécu à la contamination (Margesin et al., 2000a; Labud et al., 2007; Pena et al., 2007).

Pour une telle contamination organique, la respiration microbienne n'est pas une mesure adaptée. Aussi, l'ajout d'amendements organiques et de fertilisants lors d'une bioremédiation augmentait également la respiration microbienne que ce soit des contaminations aux HAP, diesel (Margesin et al., 2000a) ou gazoline (Tejada et al., 2008). Cette augmentation de la respiration pouvait s'expliquer par la stimulation de la croissance microbienne due aux substrats ajoutés lors des amendements organiques au sol (Tejada et al., 2008). En contradiction, la respiration

microbienne n'était pas toujours significativement augmentée par les traitements biologiques dans des sols contaminés par des hydrocarbures (Dawson et al., 2007).

4-1-2-La minéralisation de l'azote (N) :

Les sols non contaminés possèdent une minéralisation de l'azote significativement plus élevée que dans les sols contaminés avec des hydrocarbures (pétroliers, diesel ou HAP) (Lindstrom et al., 1999; Margesin et al., 2000a; Płaza et al., 2010). Lors d'ajout de fertilisants pendant une bioremédiation de sols contaminés au diesel ou HAP, la minéralisation de l'azote était de nouveau activée et favorisée (Margesin et al., 2000a).

Ce phénomène s'explique par la minéralisation des amendements azotés organiques mais aussi par la stimulation des microorganismes pour la dégradation de composés azotés. Dans les sols contaminés par une forte dose de diesel (10 000 mg.kg⁻¹ sol sec), cette stimulation lors de l'application de traitements biologiques était plus marquée que dans des sols contaminés par de plus faibles doses de HAP (1 000 mg par kg sol sec) (Margesin et al., 2000a).

4-1-3-La nitrification ou dénitrification :

Le processus de nitrification, qui transforme l'ammonium/ammoniac en nitrates et qui est une fonction importante du cycle biogéochimique de l'azote est inhibé par la contamination aux hydrocarbures, tels que le diesel, les HAP et les hétérocycles (Deni et Penninckx, 1999; Sverdrup et al., 2002; Płaza et al., 2010). Aussi, lors de traitements des sols par bioremédiation, les amendements d'origine organique nécessitent des sources de nutriments azotés permettant ainsi la stimulation des processus de dénitrification pour la transformation des nitrates en ammonium (Vinas et al., 2005; Vázquez et al., 2009). Un des inconvénients de ces fonctions est qu'elles ne sont accomplies que par les bactéries spécifiques (nitrifiantes ou dénitrifiantes), et non par toute la communauté microbienne.

4-2-L'activité enzymatique :

Le principe d'un essai enzymatique dans un sol consiste à mesurer l'activité des enzymes endogènes produites dans le sol par les micro-organismes. Dans le cas d'une étude écotoxicologique, une procédure expérimentale consiste à surcharger des échantillons d'un même sol avec des concentrations croissantes du contaminant d'intérêt puis de laisser ces échantillons quelques semaines pour permettre un équilibre chimique entre le contaminant et les différents

constituants du sol (argile, minéraux, phyllosilicates, MO) avant de mesurer l'intensité de la réponse représentant l'activité enzymatique (Chaperon and Sauve, 2007; Murata et al., 2005)

Les enzymes retrouvées dans le sol sont des protéines agissant comme catalyseurs qui accélèrent la vitesse des réactions biochimiques sans être détériorées. Elles sont spécifiques à un type de réaction mais elles ont la fonction commune de dégrader des macromolécules en molécules plus petites et assimilables pour les microorganismes (Tabatabai and Dick, 2002).

Les classes d'enzymes qui font l'objet de recherches en enzymologie des sols sont principalement les hydrolases, les transférases et les oxydoréductases.

Il existe plusieurs types d'enzymes, on peut citer : les phosphatases, les aminopeptidase, les glucosidases, les sulfatases ...

4-3- Biomasse microbienne :

Fait référence à la fraction vivante de la matière organique. Elle permet d'estimer la flore viable du sol. D'après Gil-Sotres et *al.* (2005), elle est définie comme un indicateur de qualité d'un sol. La biomasse microbienne est une source de nutriments qui supporte beaucoup de fonctions, elle est impliquée dans les cycles de transformation des éléments (C, N, P, S) (Nannipieri et *al.*, 2002).

C'est un indicateur de suivi du carbone organique dans les sols (Carter et *al.*, 1999) et de changement dans la gestion du sol (Knight et Dick, 2004). Alors que l'activité biologique est caractérisée par la présence de CO₂.

4-4-Le test de germination :

C'est un paramètre qui vise à examiner la toxicité d'une pollution sur la germination des graines. Selon Chaineau et *al.*,(1997) les hydrocarbures peuvent entrer dans les graines, empêcher les réactions métaboliques et tuer l'embryon par une toxicité aigüe directe.il y'a également une forte évidence que l'inhibition de la germination soit corrélée à l'hydrophobie des hydrocarbures qui empêchent et/ou réduisent les échanges d'eau et de gaz surtout l'oxygène.

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

4-5-Viabilité des vers de terre :

Le taux de mortalité des vers de terre tend à augmenter face à des sols contaminés par des hydrocarbures ;

Toutefois, la toxicité des contaminants sur les vers de terre dépend du type d'hydrocarbures et de leur composition : la présence d'un seul HAP dans le sol aurait un effet plus toxique à court terme sur

les vers de terre que la présence de diesel (Shin et Kim, 2001), et les mélanges d'hydrocarbures contenant plus de HAP seraient moins toxiques pour les vers de terre que ceux contenant moins de HAP (Salanitro *et al.* 1997; Dorn *et al.*, 1998).

Chapitre II : Matériel et méthodes :

Le travail expérimental a été réalisé au sein du laboratoire « pathologie des écosystèmes » de la Faculté des Sciences Biologiques et des sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efficacité des techniques de dépollution (phytoremédiation, biostimulation et bioaugmentation) d'un sol contaminé aux hydrocarbures ainsi que l'atténuation naturelle et le sol traité par la chaleur pour revégétaliser et réhabiliter un site contaminé par les carburants.

1-Matériel :

1-1- Sol :

Pour la réalisation de nos expériences, nous avons utilisé un échantillon de sol pollué provenant de la station-service de Freha située dans la commune d'Azazga, sur la route nationale N°73. Ce sol est contaminé par des déversements accidentels d'essence et de gasoil lors du remplissage des réservoirs de stockage les prélèvements ont été effectués dans la couche superficielle (0-20 cm).

1-2-Matériel végétal :

Pour évaluer la toxicité résiduelle des hydrocarbures vis-à-vis des plantes, notre choix s'est porté sur la fève et le maïs, elles sont réputées par leur pollu-résistantes.

Ces espèces sont souvent utilisées dans les tests écotoxicologiques afin évaluer l'efficacité des techniques utilisés.

Duchauffour (2001) a préconisé l'utilisation des légumineuses pour réduire la pollution du sol par les hydrocarbures. Elles jouent un rôle primordial dans la dépollution grâce à leurs systèmes racinaires puissants qui procurent au sol une bonne aération et stimulent l'activité microbienne, accélérant par conséquent, les phénomènes de dégradation naturelle.

Les graminées (maïs) sont connues pour être sensible à la pollution par les hydrocarbures.

1-2-1-Fève (*Vicia faba*) :

Le choix de cette espèce est justifié par le fait que les légumineuses sont considérées comme des plantes ayant un bon potentiel de phytoremédiation (Duchauffour, 2001).

La fève est une légumineuse de la famille des fabacées (Chaux et Foury, 1994). Elle s'est révélée particulièrement tolérante à la contamination du sol par divers hydrocarbures (Fezani et Khider,

2007 ; Diab, 2008 ; Belkacem et Rouas, 2012 ; Bourkache et Boussenou, 2015), grâce à son système racinaire puissant et à sa symbiose avec les bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium léguminosarum*) qui procure au sol une bonne aération, accélérant par conséquent, la dégradation naturelle des hydrocarbures (Duc, 1997).

1-2-2- Maïs (*Zea mays*) :

Le maïs est une plante tropicale herbacée annuelle de la famille des Poacées (Graminées), largement cultivée comme céréale. Le maïs possède un système racinaire de type fasciculé. D'après Chaineau et *al.* (1996), le maïs est considéré comme une espèce sensible à la pollution par les HC et indicatrice de la fertilité du sol (Nyabyenda ,2005)

1-3- Souche bactérienne :

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à une gamme d'activité très diverse, car elle est extrêmement souple du point de vu métabolique, physiologique et génétique, elle s'engage dans beaucoup d'activités importantes telle que la dégradation et la réutilisation de composés organiques biogéniques et xénobiotiques. Elle est renommée pour sa capacité à exploiter les produits organiques toxiques comme les hydrocarbures aliphatiques et aromatiques (Kenneth, 2000 in Amiri 2013).

Le choix de cette souche bactérienne est basé sur le fait qu'elle soit parmi les espèces les plus importantes qui dégradent les hydrocarbures. En effet, plusieurs chercheurs l'ont isolé à partir des sols contaminés par les hydrocarbures (Chabouni, 2008 ; Yin et *al.*, 2009 ; Lotfabad, 2009 in Amiri 2013).

1-4 - Fertilisants :

Nous avons utilisé les nutriments inorganiques, qui permettent de stimuler l'activité des populations microbiennes indigènes et le maintien d'une forte densité des populations de micro-organisme actifs vis-à-vis de la dégradation des hydrocarbures contenus dans le sol. Certains éléments présents dans le milieu sont essentiels à la croissance des agents indigènes de dégradation d'hydrocarbures, y compris l'azote et le phosphore qui sont considérés comme des facteurs limitant la biodégradation des hydrocarbures dans les sols, (Stewart, 2000 in Soltani, 2004)

Phosphate dipotassique : De formule chimique K_2HPO_4 , c'est une poudre granulaire, incolore ou blanche, en cristaux ou en masse, avec un poids moléculaire de 174,18g /mole.

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.

1-5- les vers de terre :

Les vers de terre ont été utilisés pour déterminer l'efficacité des traitements effectués avec le taux de survies de ces derniers.

2-Méthodes :

2-1 - Mise en place de l'essai :

Après échantillonnage sur le terrain, le sol a été tamisé à l'aide d'un tamis à mailles de 5mm de diamètre et homogénéisé pour être ensuite réparti en plusieurs lots afin de le traiter avec des techniques biologiques différentes :

- Bioaugmentation par l'utilisation d'une suspension de la souche *Pseudomonasaeruginosa* .
- Biostimulation par l'ajout de phosphate monopotassique (KH_2PO_4) et de sulfate d'ammonium $(NH_4)_2SO_4$.
- Phytoremédiation par la culture de la fève.
- Sol traité par la chaleur à une température ambiante de 28°
- Sol n'ayant subi aucun traitement (atténuation naturelle)

le sol a été divisé en 6 pots de 7cm de diamètre et de 8cm de profondeur ; le sol de 3 pots a été cultivé par la fève le 21\ 04\ 2019 à raison d'une graine par pot, trois répétitions ont été effectuées. Les 3 autres pots n'ayant pas été cultivés ont servi de témoin. Les pots sont disposés devant la fenêtre de manière à recevoir la même intensité de lumière.

- Le suivi des cultures en place a consisté en un arrosage régulier à l'eau de robinet durant toute l'expérimentation. Après 48 jours, le sol traité par la phytoremédiation a été récupéré et réparti ensuite dans 6 boîtes de Pétri, dont 3 ont reçu des graines de maïs et les 3 autres des vers de terre afin d'évaluer la toxicité résiduelle des carburants.



Fig. 4: Dispositif expérimental de la phytoremediation

La souche bactérienne a été rajoutée au sol contaminé par les carburants et humidifié avec de l'eau de robinet ensuite placé dans l'étuve à 28°C pendant 28 jours. Le sol a été récupéré puis réparti sur 6 boîtes de Pétri, dont 3 ont reçu des graines de maïs et les 3 autres des vers de terre.

Des fertilisants ont été ajoutés au sol contaminé par les hydrocarbures et humidifié avec de l'eau de robinet ensuite placé dans l'étuve à 28°C pendant 28 jours.

Le sol a été récupéré puis réparti en 6 boîtes de Pétri, dont 3 ont reçu des graines de maïs et les 3 autres des vers de terre.

Le sol contaminé par les hydrocarbures a été humidifié ensuite placé dans une étuve à 28°C pendant 28 jours.

Le sol a été récupéré puis réparti en 6 boîtes de Pétri, dont 3 ont reçu des graines de maïs et les 3 autres des vers de terre.

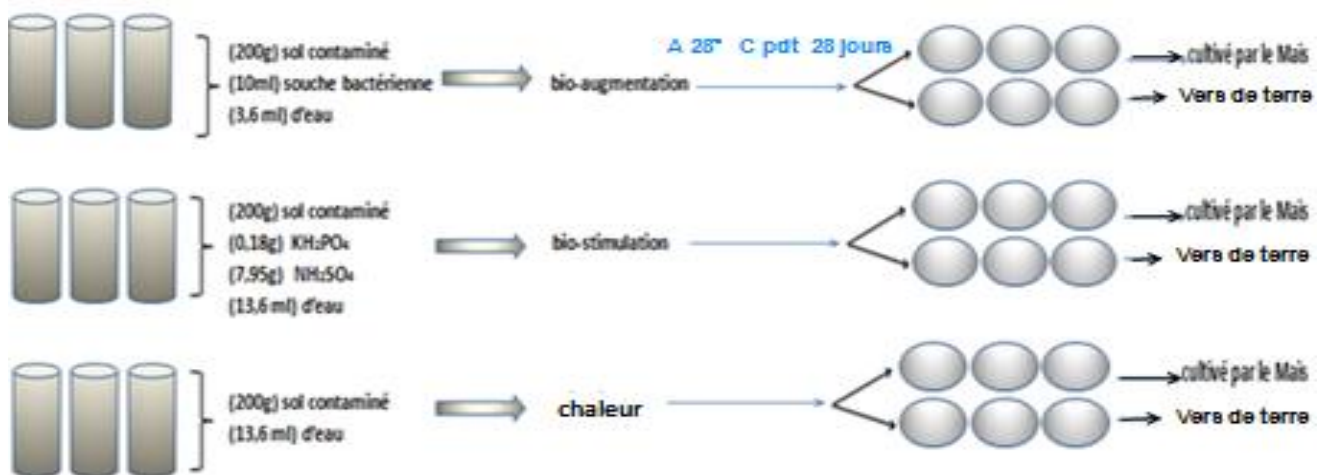


Fig. 5: Dispositif expérimental de la bioaugmentation, biostimulation et le sol traité par la chaleur

2-2-Indicateurs biologiques de la qualité du sol :

2-2-1- Activité biologique globale :

L'activité biologique globale a été décrite par Dommerges (1968). Elle a été évaluée par le test respirométrique. Dans des flacons de 250 ml, bien fermés, contenant 50 g de chaque sol, 2 tubes à hémolyse ont été placés l'un contenant de l'eau pour éviter le dessèchement du sol et l'autre 5 ml de NaOH à 0,5N pour fixer le CO₂ dégagé par les microorganismes. Pour chaque sol, 3 répétitions ont été réalisées. Les sols ont été ensuite incubés pendant 7 jours à 28°C. Après incubation, le NaOH contenu dans les tubes est titré par l'acide sulfurique dilué (H₂SO₄) à 0,25N, en ajoutant une goutte de phénophtaléine. La fin de la titration est marquée par la disparition de la couleur rose violacée (fig.6)

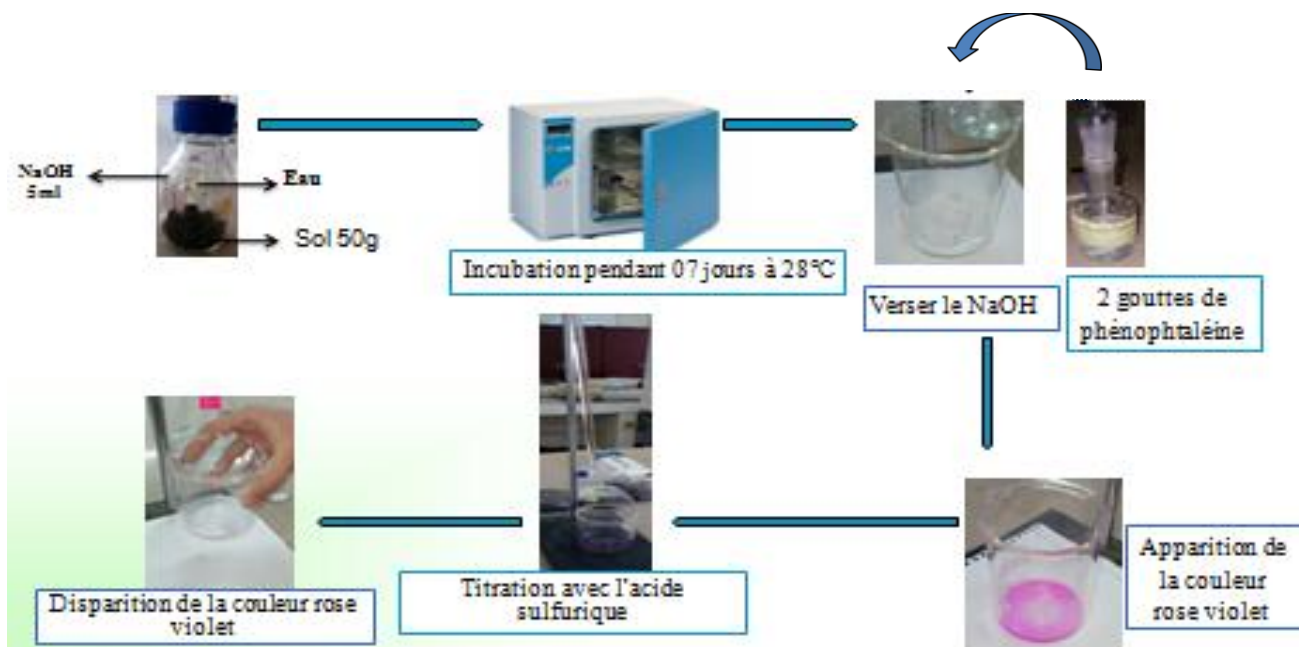
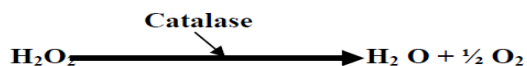


Fig.6: Protocole de mesure de la respiration microbienne (Originale, 2019).

2-2-2- Activité enzymatique :

La catalase est une enzyme ayant la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



la catalase (CAT) est une enzyme extracellulaire utilisée pour mesurer la sévérité du stress oxydatif causé par les HAP (Liu et *al.*, 2014) ; elle a été mesurée selon la méthode de Guan (1986).

Ajouter 2,5 ml de H₂O₂ à 0,3% et 20 ml de tampon phosphate (pH 7) à un échantillon de sol (5 g), et le mélange réactionnel a été incubé à 25 ° C pendant 20 min .Après l'incubation, ajouter 2,5 ml de 3 mol.l-1 H₂SO₄ à la solution pour arrêter la réaction ,suivi du filtrage du mélange en le faisant passer à travers un papier filtre .Titrer 15 ml du filtrat par 0,02 mol.l-1 de solution de KMnO₄ jusqu'au virement de couleur rose claire. Enfin, le volume dissipatif de la solution de KMnO₄ a été utilisé pour désigner l'activité de CAT .Toutes les activités enzymatiques ont été mesurées en double pour tous les sols. (fig.7)

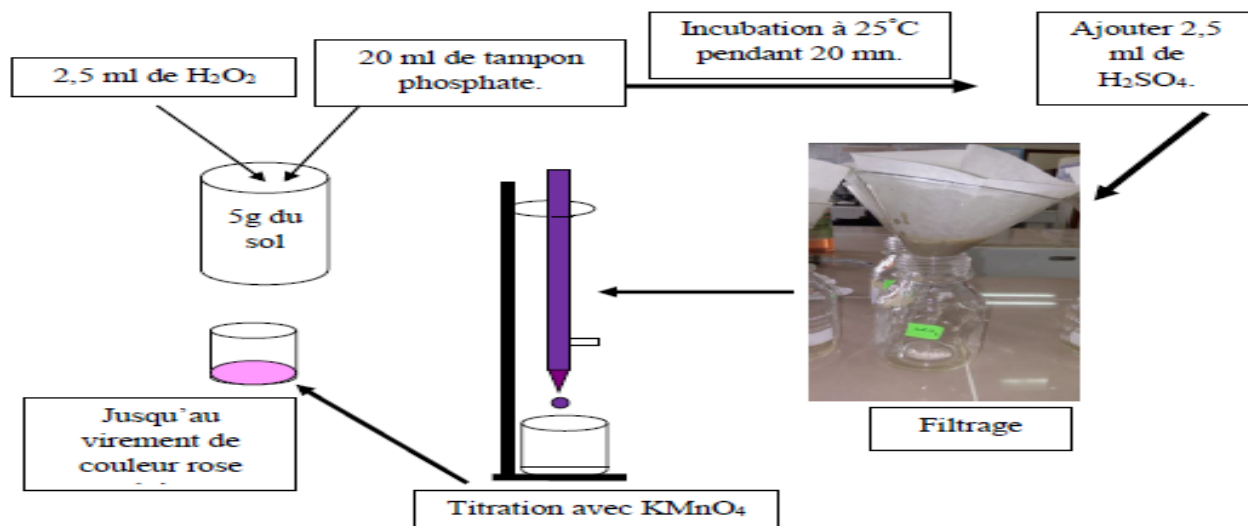


Fig. 7: Protocole de mesure de l'activité de CAT

2-2-3-Tests d'écotoxicité :

Pour estimer le seuil de toxicité des contaminants dans un sol conjugué au suivi du rendement, en termes de réduction des concentrations, de la restauration des sols, certains auteurs préconisent l'utilisation de bio-essais. Les réponses des écosystèmes permettent l'identification d'effets toxiques ou non des hydrocarbures présents dans le sol sur les récepteurs (Maila et Cloete., 2005).

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

Dans une boîte de Pétri, 10 graines de maïs ont été semées dans 50 g de sol avec un arrosage régulier. Les graines germées sont dénombrées et le taux de germination est calculé comme suit :

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

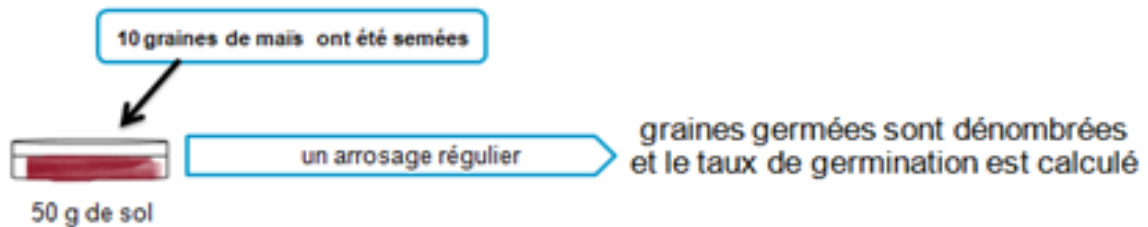


Fig.8 : Test de germination

2-2-3-2-Viabilité des vers de terre :

Le paramètre suivi est en général, le taux de survie ou de mortalité des vers de terre. Ainsi le taux de mortalité des vers de terre tend à augmenter dans des sols contaminés par des hydrocarbures, tels le pyrène (Brown *et al.*, 2004) , le phénanthrène ou le diesel (Shin et Kim, 2001).

$$\text{Taux de survie (\%)} = (\text{nombre de vers de terre survie} / \text{nombre total des vers de terre}) \times 100$$

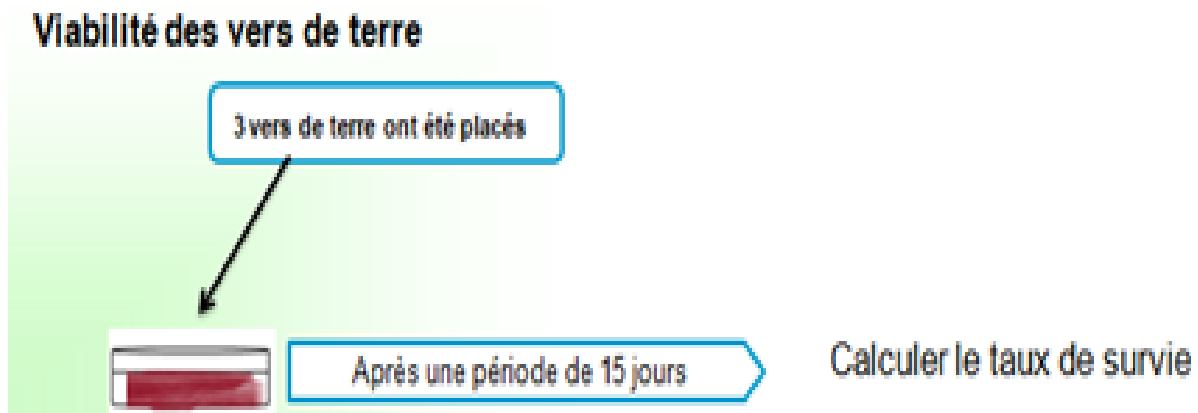


Fig.9: viabilité des vers de terre

2-3- Dosage des hydrocarbures :

L'évaluation s'effectue par l'extraction des HC contenus. Le but de cette extraction est d'évaluer la quantité des HC restants dans le sol après traitements par les différentes techniques. Nous avons pesé 20 g de chaque sol, auxquels nous avons ajouté 100 ml d'hexane que nous avons laissé en

agitation pendant 6 h. L'étape de séparation est réalisée par centrifugation à 4500 tours/mn pendant 20 mn.

Le surnageant a été récupéré et laissé jusqu'à évaporation totale du solvant. Après évaporation, nous avons pesé les quantités d'HC extraites à l'aide d'une balance. 3 répétitions ont été effectuées pour chaque sol. (Fig.10)

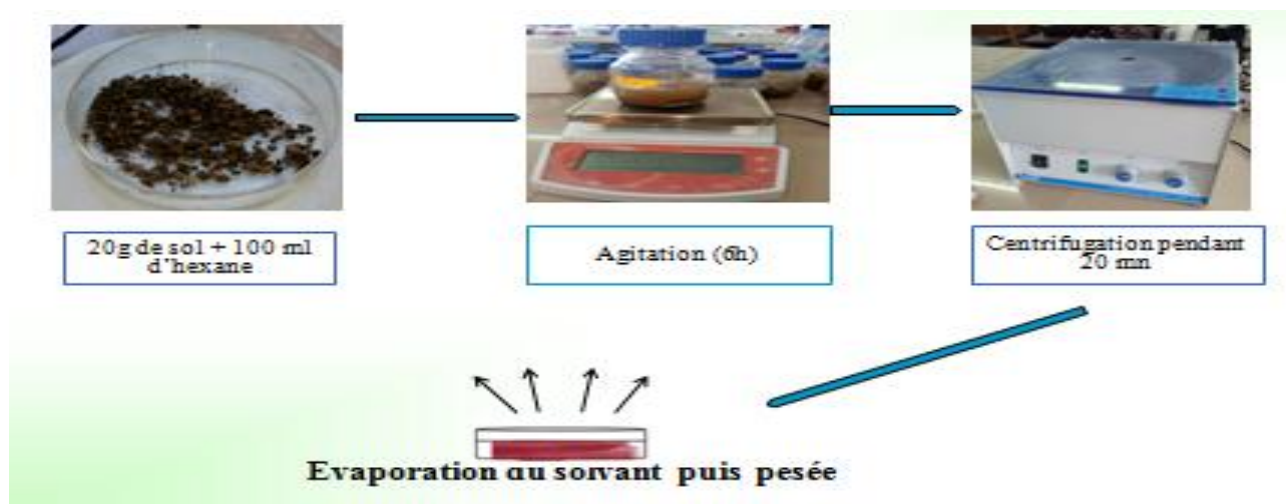


Fig. 10 : Protocole de l'extraction des hydrocarbures résiduels. (original ,2019)

2-4- Analyse statistique des données :

L'analyse statistique des résultats obtenus a été effectuée avec le logiciel R 3.0.2. Les résultats ont été soumis au test de l'ANOVA à un facteur suivie du test de NEWMAN et KEULS pour établir les groupes homogènes dans le cas où les différences sont significatives.

Chapitre III : Résultats et discussion

1-Résultats :

Notre étude a consisté en l'évaluation de l'efficacité de quelques techniques biologiques de décontamination (biostimulation, bioaugmentation et phytoremédiation, sol traité par la chaleur) d'un sol pollué par les hydrocarbures par comparaison à l'atténuation naturelle.

1-1-Effet des hydrocarbures sur les paramètres biologiques du sol :

1-1-1-Résultats du test respirométrique :

La respiration du sol correspond à la production de dioxyde de carbone résultant de l'activité biologique du sol par les organismes vivants. Elle permet une estimation de la quantité de matière organique minéralisée par les microorganismes du sol.

L'effet de la décontamination du sol sur la respiration microbienne est illustré par la figure 7. Les résultats montrent que la production cumulée de CO₂ dans le sol soumis à bioaugmentation est plus élevée que dans les sols ayant été traités par biostimulation, phytoremédiation et l'atténuation naturelle.

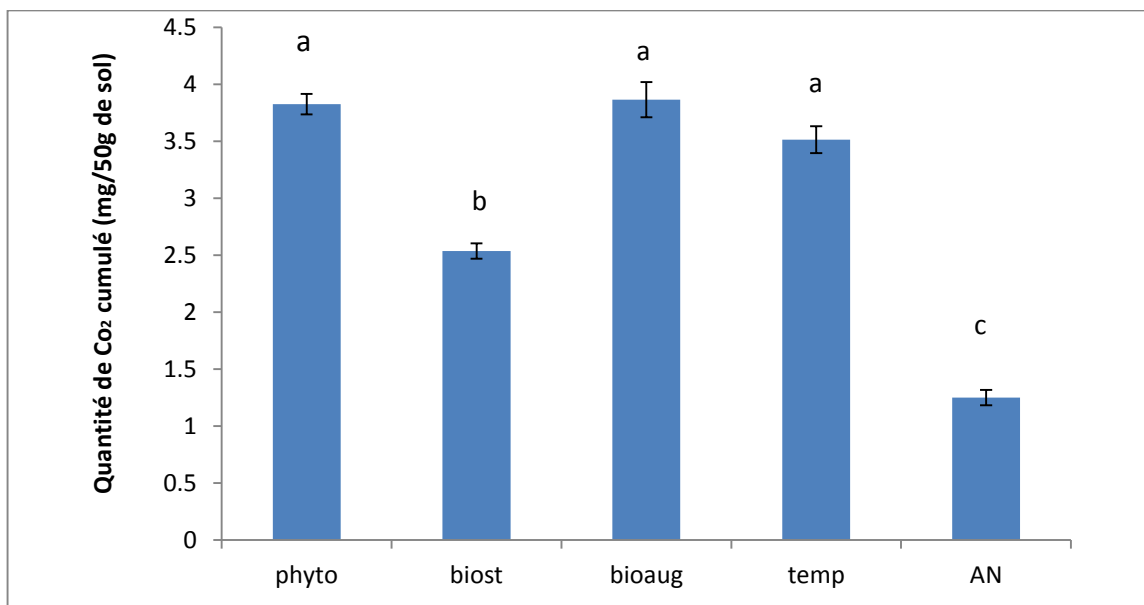


Fig. 11: Production de CO₂ cumulée.

Le test de l'ANOVA à un facteur (Annexe 1) pour la production cumulée de CO₂, montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les différents traitements (p-value= 1,117e-07), ce qui signifie que ces traitements n'ont pas agi de la même façon dans la décontamination du sol.

Le test de NEWMAN et KEULS (Annexe 2) a classé les traitements en 3 groupes homogènes.

La bioaugmentation et la phytoremediation et le sol traité par la chaleur sont classés dans le groupe « a », la biostimulation dans le groupe « b », L'atténuation naturelle est classé dans le groupe « c », Cela indique que la bioaugmentation et la phytoremédiation et le sol traité par la chaleur ont la même efficacité dans la décontamination du Sol.

1-1-2-Activité de la CAT :

La figure 10 représente l'activité de catalase dans les différents traitements, exprimée par la quantité de H₂O₂ (en moles) ayant été transformée.

D'après les résultats de la figure 8, nous avons observé que les valeurs de l'activité de la catalase ont été proches les unes des autres.

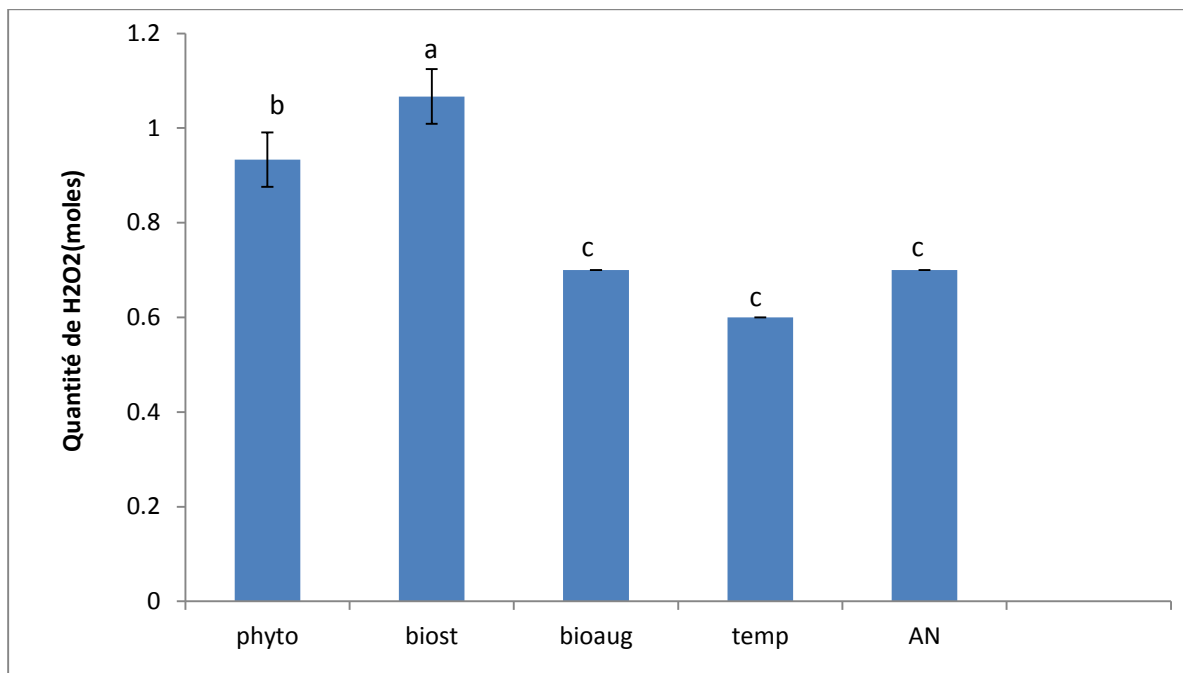


Fig. 12 : Activité de la catalase.

Le test de l'ANOVA à un facteur (Annexe3) a révélé qu'il y avait une différence significative entre les traitements (p-value=7.549e-05).

Le test de NEWMAN et KEULS (Annexe 4) a fait ressortir 3 groupes homogènes.

La biostimulation dans le groupe « a », la phytoremediation dans le groupe « b », l'atténuation naturelle et le sol traité par la chaleur et la bioaugmentation sont classées dans le groupe « c ».

Ce qui signifie que la biostimulation est caractérisé par une activité de la CAT plus importante.

1-2.Effet des hydrocarbures sur le végétal :

Pour l'évaluation de la toxicité des carburants vis-à-vis des espèces végétales, nous avons calculé le taux de germination qui est un indicateur fiable de la qualité biologique du sol.

La figure 9 représente le taux de germination du maïs dans les différents sols. La germination du maïs est différente d'un traitement à un autre, le taux le plus élevé étant obtenu dans le sol traité par phytoremediation (90%), suivi par celui enregistré dans sol traité par atténuation naturel (7.66 %) puis le taux obtenu dans le sol traité par la bioaugmentation (5.66%) Le taux le plus faible a été enregistré dans le sol traité par la biostimulation (1.66%). Cela indique que l'efficacité des traitements n'as pas était la même dans la décontamination du sol.

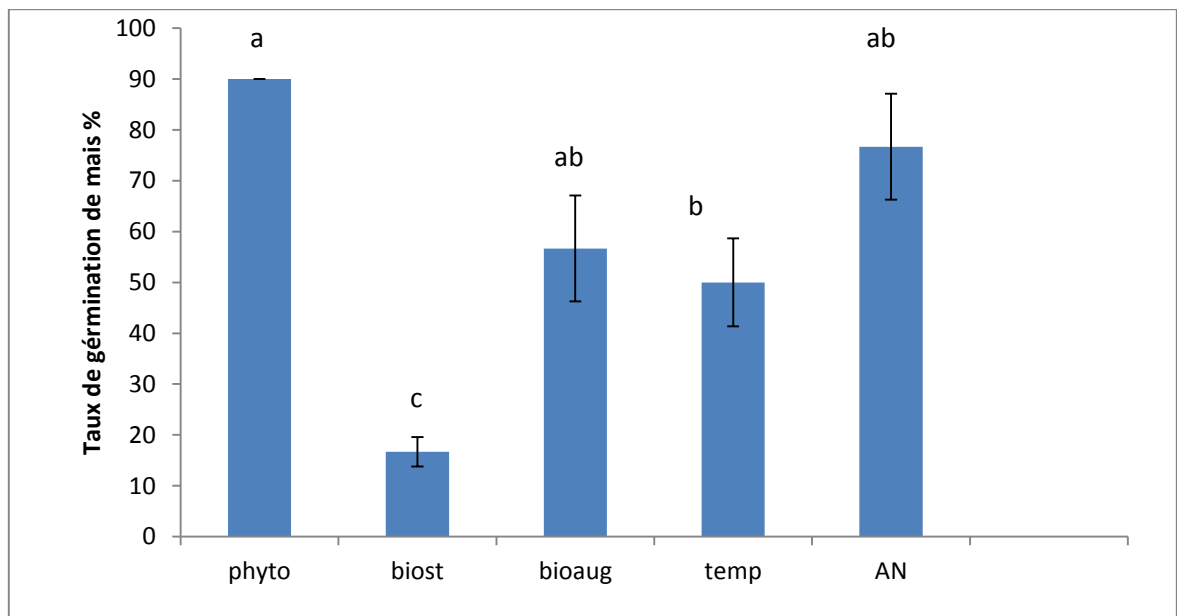


Fig. 13 : Taux de germination du maïs dans les différents sols.

Le test de l'ANOVA (Annexe 5) a révélé un effet hautement significatif des traitements sur le taux de germination du maïs ($p \text{ value}=0.001706$). Cela indique que le maïs n'a pas germé de la même façon après les traitements.

Le test de NEWMAN et KEULS (Annexe 6) a fait ressortir quatre groupes homogènes.

La phytoremédiation dans le groupe «a», le sol traité par la chaleur dans le groupe «b», l'atténuation naturelle et la bioaugmentation da le groupe «ab» la biostimulation dans le groupe «c» ce qui signifie que la phytoremediation était le traitement qui a amélioré le plus le taux de germination du maïs.

1-3.Effet des hydrocarbures sur la viabilité des vers de terre :

La figure 10 représente le taux de mortalité des vers de terre dans les différents sols, les résultats montrent que le sol traité par phytoremediation présente un le taux de mortalité de 0,33.

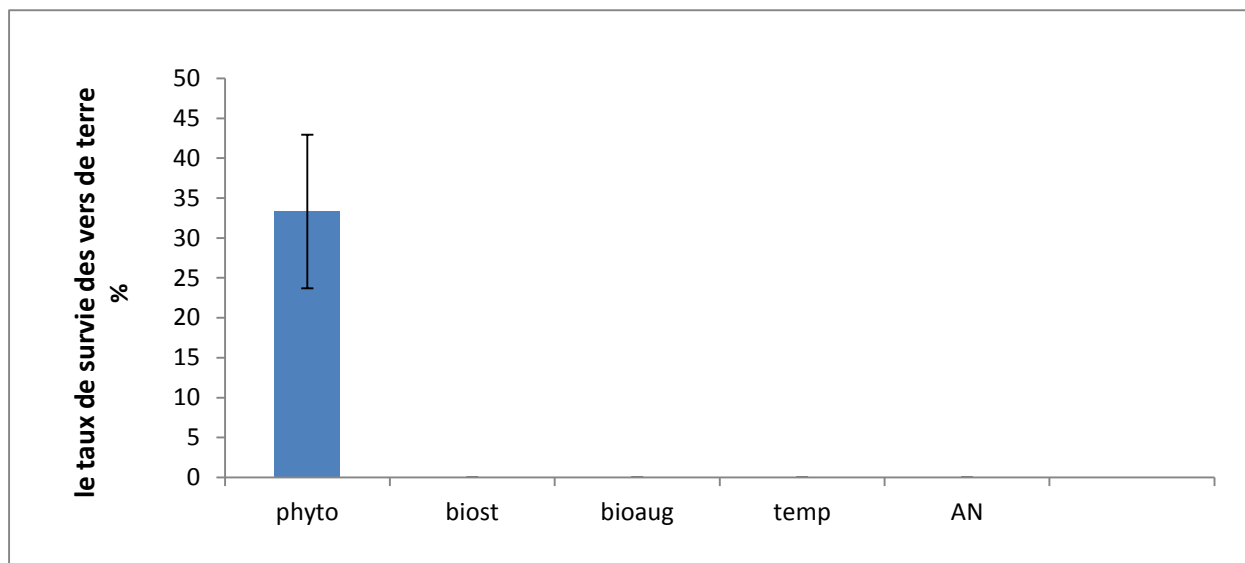


Fig. 14 : Taux de survie des vers de terre dans les différents sols

Le test de l'ANOVA à un facteur (Annexe 7) a révélé qu'il n'y a pas une différence significative entre les traitements (Pvalue=0.4516)

1-4-Analyse des HC (Evaluation de la quantité des hydrocarbures totaux) :

L'extraction des HC totaux dans le sol est un critère quantitatif qui permet d'apprécier la quantité des HC qui existent dans le sol. La figure 11 représente la quantité des HC totaux dans les différents traitements.

D'après les résultats, les quantités des HC diffèrent dans les différents sols ; Après décontamination, il restait plus d'hydrocarbures dans le sol traité par la biostimulation (77.2g/100g de sol) Comparant aux autres sols traités par atténuation naturel (24,3 g/100 g de sol), celui ayant subi une bioaugmentation (10,8g/100g). La quantité la plus faible (8g/100g de sol) a été obtenue dans le sol traité par phytoremédiation (fig. 11).

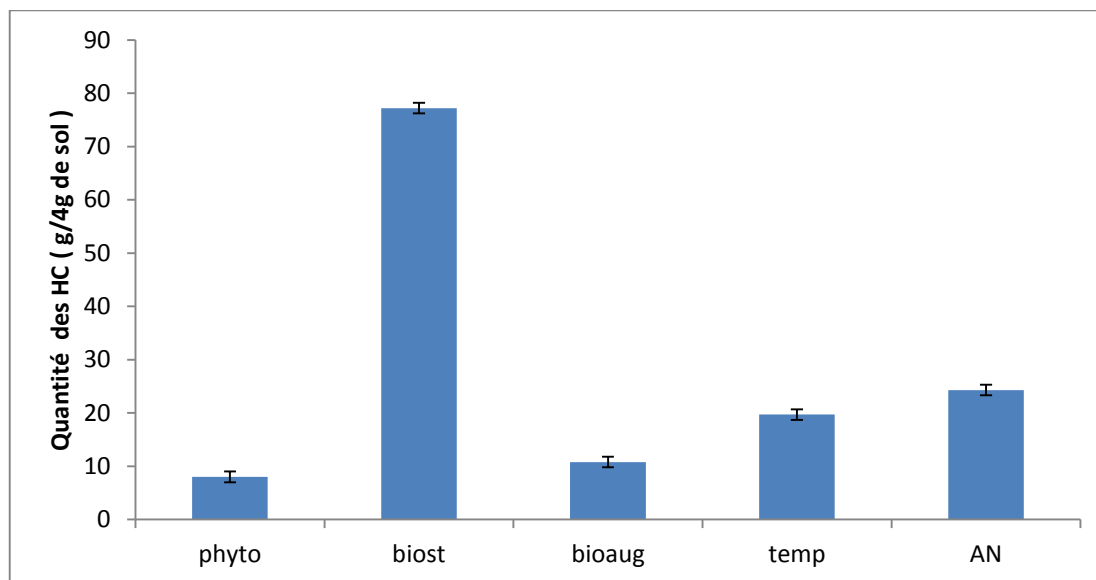


Fig. 15 : Quantité des HC dans les différents sols.

On révèle que le sol qui a moins décontaminé les hydrocarbures était la biostimulation.

2-Discussion :

Les résultats du test respirométrique montrent que le sol traité par la phytoremediation , la biostimulation la bioaugmentation et le sol traité par la chaleur sont mieux par rapport à l'atténuation naturelle , cela a été confirmé par le travail de Hamitouche et Henadci (2018) .

D'après Prosser (1997), la respiration est la plus commune et ancienne mesure indirecte de l'activité microbienne globale dans les sols.

La bioaugmentation par inoculation des microorganismes est un moyen possible d'augmenter la biodégradabilité des contaminants toxiques (Vogel, 1996)

Le rajout d'une souche bactérienne augmente l'activité biologique globale du sol contaminé ce qui permet la production de dioxyde de carbone remarquable dans le sol traité par la bioaugmentation ; plus les valeurs de dégagement de CO₂ et de minéralisation du carbone organique sont élevées, plus le sol est actif, plus il peut assumer efficacement les différentes fonctions qui le caractérisent.

Ghosh et *al.* (2014) ont montré que la souche de *P. aeruginosa* peut être un agent efficace dans la dégradation du pyrène, et aussi dans le processus de traitement biologique ou dans la biorestauration.

La plante fournit les nutriments par les exsudats racinaires, et parfois de l'oxygène pour les populations microbiennes de la rhizosphère, ce qui augmente la biodisponibilité des contaminants pour la plante et les microorganismes (Tanee et Kinako, 2007). Et cela permet d'augmenter le dégagement de CO₂.

En effet, des plantes telles que les légumineuses, ont une capacité de dépollution importante, en dégradant les hydrocarbures, grâce à un système racinaire bien développé, ce dernier induirait des changements des propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol, permettant ainsi l'amélioration de l'environnement microbien et un développement normal de la végétation.

Après La phytoremediation, la biostimulation et le traitement par la chaleur a aussi montré une production de dioxyde de carbone ce qui signifie que ce sol contaminé a été soumis à des conditions favorables au laboratoire avec une température ambiante qui favorise l'activité des microorganismes indigènes.

L'activité de catalase montre que la biostimulation a la valeur la plus élevée de la quantité de H₂O₂ ce qui explique que ce sol était le moins décontaminé avec une forte activité enzymatique, donc l'activité biologique augmente avec l'augmentation de la pollution.

Selon ECKFORD *et al.* (2002), la pollution des sols par les hydrocarbures a pour conséquence un déficit en azote et en phosphore, ce qui peut limiter la biodégradation des hydrocarbures. Pour tout traitement biologique, un enrichissement du sol avec ces éléments sera donc nécessaire.

L'azote et le phosphore sont des facteurs limitant la biodégradation des hydrocarbures dans les sols (MOHN et STEWART, 2000). Ces éléments rentrent dans l'édification des constituants cellulaires lors de la multiplication des microorganismes (synthèse d'ADN, protéines) ce qui permet la stimulation de ces derniers pour une bonne activité biologique.

Selon Adam et Duncan (2003) les hydrocarbures présents dans les rejets des stations-service cause une élévation en carbone ce qui induit à l'altération de le ratio C/N. Le carbone ajouté, stimule le nombre de bactéries mais crée un déséquilibre de le ratio C/N qui peut résulter par une immobilisation de l'azote du sol par la biomasse microbienne, devenant non disponible pour les plantes ce qui résulte une mauvaise décontamination du sol malgré le rajout des fertilisants.

Par ailleurs, il est connu que la flore microbienne a besoin d'éléments minéraux pour sa croissance, en particulier d'azote et de phosphore, dont les proportions optimales, généralement admises, sont de 10g d'azote et 1g de phosphore pour 100g de carbone (BALLERINI, 1999).

La dégradation des hydrocarbures a été stimulée par l'apport des fertilisants N et P ceci a été confirmé par Ali Ahmed (2011), Chergui et Dahmani (2009). En effet, la disponibilité des nutriments est un facteur limitant pour la biodégradation dans les sols pollués.

D'après les résultats obtenus par Mercle *et al.*, (2005) in Njuko *et al.* (2009), la diminution du pH du sol pourrait être due à l'accumulation d'acides organiques produits lors de la biodégradation dans le sol ou bien à la production des radicaux acides par la nitrification. Le NH_4 est utilisé comme source d'azote, et une fois métabolisé par les microorganismes, il modifie le pH du milieu suite à la libération d'un ion de H^+ alors que l'activité biologique nécessite un pH neutre.

Le taux de germination de maïs a révélé que la phytoremediation était le meilleur traitement sachant que la quantité des hydrocarbures dans ce sol était très faible. Concernant les vers de terre, nous avons enregistré que la phytoremediation s'est avérée comme la technique la plus efficace, et la seule qui a permis une légère augmentation de la survie des vers de terre.

Dans des sols en cours de bioremédiation, l'effet toxique des hydrocarbures est variable, une augmentation de la mortalité des vers de terre a déjà été observée, après application de traitements biologiques dans des sols contaminés initialement par des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques (Dawson *et al.*, 2007), ou par des HAP (Phillips *et al.*, 2000).

Ces résultats peuvent s'expliquer par la formation de métabolites intermédiaires, produits issus de la dégradation de contaminants, parfois plus toxiques que les hydrocarbures. Les effets toxiques sur les vers de terre varient d'une étude à l'autre et dépendent entre autres des hydrocarbures en présence, des propriétés du sol et des espèces-récepteurs.

Selon Curry (1998), les vers de terre sont généralement absents dans des sols très acides (pH < 3.5). Les hydrocarbures (gasoil et essence super) dans le sol provoquent un effet dépressif sur le poids des vers de terre dans le temps et augmentent leur mortalité. Cette toxicité augmente avec l'augmentation des concentrations, Ceci a été confirmé par le travail de Ghides et Imarazen (2017).

Des études ont montré que les plantes sont capables d'absorber et de métaboliser un grand nombre de polluants organiques et inorganiques. Les plantes secrètent des exsudats racinaires qui stimulent la bioremédiation microbienne au niveau de la rhizosphère (Abdelly, 2007). Selon Kaputcka et Reporter (1993) et OCDE(1984) in Rivière (1998), les plantes ont la capacité de stockage ou de dégradation, qui sont très variables en fonction de l'espèce. L'absorption par la racine et la translocation vers la partie aérienne est en fonction de l'espèce (Norini, 2007). Les hydrocarbures ont un effet néfaste sur le développement des végétaux et cela est confirmé par l'arrêt de sa croissance. Chaineau et al. (1997).

Tisdal et Nelson (1977) in Njuko et al. (2009) ont noté que la diminution du pH était due à la production des radicaux acides par nitrification. La différence relevée dans le présent travail peut être liée à l'espèce de vers de terre utilisée et son système de dégradation, car Edwards et Bohlen (1996) indiquent qu'il existe un pH optimal pour chaque espèce, et la plupart des vers de terre préfèrent un pH neutre.

Les résultats obtenus pour la germination ont montré que le seul traitement qui a révélé un mauvais résultat c'est la biostimulation. Afin d'améliorer la dégradation des hydrocarbures dans le sol et d'améliorer la qualité biologique de celui-ci, la culture de la fève, l'ajout de nutriment (N et P) ou l'inoculation du sol avec une souche dégradante d'HC s'avèrent être des solutions efficaces, avec une préférence pour la phytoremédiation dans notre travail.

Selon Khan et ses collaborateurs (2012), l'utilisation des plantes est efficace pour la décontamination du sol en raison de leur capacité à tolérer les hydrocarbures, transformer les polluants organiques en une forme moins toxique, par le biais d'oxydation et /ou de réduction, par le biais de leurs propres enzymes.

Conclusion :

Dans la présente étude nous avons comparé l'efficacité de quelques techniques biologiques de décontamination d'un sol pollué aux hydrocarbures.

D'après les résultats obtenus au cours de notre travail, nous concluons qu'il y a eu une biodégradation importante des HC dans les sols traités par phytoremédiation , bioaugmentation et le sol traité par la chaleur par rapport au sol non traité (atténuation naturelle) et la biostimulation par l'apport de nutriments..

La qualité biologique du sol a été améliorée par les trois techniques par rapport à l'atténuation naturelle. Ceci se traduit par une forte activité biologique dans les sols traités, indiquant la dégradation des hydrocarbures au cours du traitement.

L'activité enzymatique est plus forte dans le sol après biostimulation poursuivi de la phytoremediatin. Les plantes sont une source supplémentaire d'enzymes dans le sol, ce qui aurait accéléré et amélioré la dégradation des hydrocarbures dans le sol cultivé. Ceci est confirmé par la quantité résiduelle des hydrocarbures qui était très faible après phytoremédiation. Cette dernière est suivie en termes d'efficacité de dépollution par le sol traité par la chaleur et la bioaugmentation. La biostimulation et L'atténuation naturelle ont été les plus lentes présentant des taux plus élevés d'hydrocarbures résiduels.

Les résultats obtenus pour la germination du maïs confirment l'efficacité de tous les traitements par rapport à la biostimulation.

Concernant les vers de terre on remarque la survie d'un seul individu dans le sol traité par la phytoremediation ce qui confirme que cette dernière a donné un meilleur résultat.

Pour les études futures, nous proposons les perspectives suivantes :

- Revoir les quantités des fertilisants vu que les résultats obtenus par la biostimulation sont pas satisfaisants
- Réalisé d'autres essais dans d'autres stations-service pour confirmer les résultats obtenus dans cet essai
- Effectué la combinaison de 2 techniques la bioaugmentation et la phytoremediation pour avoir un meilleur résultat.

Résumé :

Le présent travail a pour objectifs de tester l'efficacité de quelques techniques biologiques dans la décontamination d'un sol contaminé par les hydrocarbures par le biais de l'évaluation des paramètres biologiques.

Les résultats obtenus ont montré que les indicateurs biologiques de la qualité du sol présentaient des valeurs faibles après bioaugmentation et phytoremédiation, ce qui signifie que ces dernières ont dégradé de façon plus efficace les hydrocarbures dans le sol par rapport à l'atténuation naturelle et biostimulation.

La phytoremédiation s'est avérée être la plus efficace vu la faible quantité résiduelle d'hydrocarbures et la disparition de certaines fractions de ceux-ci.

Les mots clés : les hydrocarbures, phytoremédiation, biostimulation, bioaugmentation, atténuation naturelle, la qualité biologique du sol.

Abstract:

The present work aims to test the effectiveness of some biological techniques in the decontamination of hydrocarbon-contaminated soil through the evaluation of biological parameters.

The results showed that the biological indicators of soil quality had low values after bioaugmentation and phytoremediation, which means that the latter degraded soil hydrocarbons more efficiently than natural attenuation and biostimulation.

Phytoremediation proved to be the most effective given the small residual amount of hydrocarbons and the disappearance of some fractions thereof.

Key words : hydrocarbons, phytoremediation, biostimulation, bioaugmentation, natural attenuation, soil biological quality.

Liste des annexes

Annexe 1 : Test de l'Anova à un facteur pour le test respirométrique.

```
Response: co2
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
trt        4 14.9264   3.7316  84.969 1.117e-07 ***
Residuals 10  0.4392   0.0439
```

Annexe 2 : Test de Newman et Keuls pour le test respirométrique.

```
$groups
      trt  means M
1 bioaug 3.86595 a
2 phyto  3.82690 a
3 temp   3.51450 a
4 biosti 2.53825 b
5 attn   1.24960 c
```

Annexe 3: Test de l'Anova à un facteur pour l'activité de CAT.

```
Response: cat
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
trt        4 0.44667 0.111667  20.938 7.549e-05 ***
Residuals 10 0.05333 0.005333
```

Annexe 4: Test de Newman et Keuls pour l'activité de la CAT .

```
$groups
      trt  means M
1 biosti 1.0666667 a
2 phyto  0.9333333 b
3 attn   0.7000000 c
4 bioaug 0.7000000 c
5 temp   0.6000000 c
```

Annexe 5 : Test de l'Anova à un facteur pour le taux de germination du maïs.

```
Response: germination
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
trt        4   94.4    23.6  9.8333 0.001706 **
Residuals 10   24.0     2.4
```

Annexe 6: Test de Newman et Keuls pour la germination du maïs.

```
$groups
      trt      means  M
1 phyto  9.000000  a
2 attn   7.666667  ab
3 bioaug 5.666667  ab
4 temp   5.000000  b
5 biosti 1.666667  c
```

Annexe 7 : Test de l'Anova pour la viabilité des vers de terre.

```
Response: vers
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
trt     4  0.26667  0.066667      1 0.4516
Residuals 10  0.66667  0.066667
```

Références bibliographiques

Abdelly C., 2007. Bioremédiation / Phytoremédiation. Série N° 232. Université de Tunis Institut Supérieur de l'Éducation et de la Formation Continue Département des Sciences Naturelles.

Adam, G., Duncan, H. (2003). The effect of diesel fuel on common vetch (*Vicia Sativa L.*) plants. *Environmental geochemistry and health*, 123-130

Adem, Agence de l'Environnements et de la Matrice de l'Énergie., (2006) : Traitement biologique des sols pollués : recherche et innovation. Paris .92p.

AEHS, Association for Environmental Health and Sciences, 1998: TPH Criteria Working Group Series. Volume 1: Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environmental Media, Wade Weisman (Ed.). <http://www.aehs.com/publications/catalog/contents/Volume1.pdf>

Ali Ahmed H., Belkaid H., 2006 : Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes et des microorganismes du sol dans un essai de phytoremédiation. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 73p.

Ali ahmed S., 2011 : Essai de réhabilitation d'un sol contaminé par les hydrocarbures à l'aide de tensioactifs obtenus par voie biologique. Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques INA d'Alger.45p.

Alilouche M., Toudouft L., 2014 : L'effet de quelques carburants (l'essence normale, l'essence super et le gasoil) sur les nodosités des racines de la fève (*vicia faba l.*) et sur quelques propriétés du sol. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 35p.

Alik S., Belkacem L., 2015 : Essai de remédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par la technique de bioaugmentation. Mémoire de master en biologie. U.M.M.T.O. 66p

Alrumman S.A., Standing D.B., Paton G.I., 2015: Effect of hydrocarbon contamination on soil microbial community and enzyme activity. *Journal of King Saud University—Science*.Vol. 27. pp: 31–41.

Amireche L., 2014 : Etude de la pédofaune selon un gradient de pollution par les hydrocarbures. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 33p.

Amiri N. 2013 : Ecotoxicité des hydrocarbures sur le sol et un essai de décontamination biologique. 48 pp. Mémoire d'ingénieur d'état en biologie. Université de Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

Andreoni V., Cavalca L., Rao M.A., Nocerino G., Barnasconi S., Dell'Amico E., Colombo M., Gianfreda L., 2004: Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere*. Vol. 57. pp: 401–412.

Arbaoui N., et Affane B.A ., (2005). Traitement des rejets pétroliers en Algérie. P4.

Bachelier G., 1978 : La faune du sol son écologie et son action .Ed.O.R.S.T.O.M. 335p.

Ballerini D. et Vandecasteele J. P., (1999). La restauration par voie microbiologique des sols contaminés par les polluants organiques. *In* : Biotechnologie, coordinateur R. Scriban, 5ème édition, *Edition Tech et Doc*, pp. 835- 865.

Ballerini D., (1999). Traitements biologiques des sols. *Technique de l'ingénieur*, traité Environnement, G2 620, pp. 1- 6.

Barriuso E. ; Calvet R. ; Schiavon M. ; Soulas G., 1996 : Les pesticides et les polluants organiques des sols. *Etude et gestion des sols*. Vol. 3. N°4. pp : 279-296. N° spécial.

Bastida F., Zsolnay A., Hernández T., et García C., 2008 : Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. *Geoderma*. Vol. 147. N°3-4. pp :159-171.

Belhocine H., 2016: Etude de l'efficacité d'une plante ornementale (*Chlorophytum comosum*) dans la décontamination d'un sol pollué aux hydrocarbures. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 30p

Belkacem S., Rouas F., 2012 : Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes *Vicia faba* L. et *Trifolium alexandrinum* L. 'essai de phytoremédiation'. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 58p.

Bergue J., 1986. La pollution des sols par les hydrocarbures. Service Physique-Génie urbain, laboratoire régional de Rouen. PP 57-64

Bertrand A. R., Briant J., Castela A., Degobert P., Gatellier C., Masson M., Oudin J.-L. et J. Pottier., (1972). Prévention et lutte contre la pollution au cours des opérations de forage et de production en mer. *Oil and Gas Energy Booksellers since*.

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., et Gauthier M.J. (Eds.), *Microorganismes dans les écosystèmes océaniques*. Masson (Paris), chapitre 13 :343-385

BOFAS, « Directive BOFAS: Assainissement des sols des stations-service en Belgique », 10 décembre 2004, Belgique.

Brown, P.J., Long, S.M., Spurgeon, D.J., Svendsen, C. et Hankard, P.K. (2004). Toxicological and biochemical responses of the earthworm *Lumbricus rubellus* to pyrene, a non-carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon. *Chemosphere* 57(11) p.1675-1681

Blum, W.E.H., (1997). Basic concepts: Degradation, resilience and rehabilitation. Methods for assessment of soil degradation. R. Lal, W.H. Blum, C. Valentine et B.A. Steward. Boca Raton, Florida, *Advances in Soil Science*. CRC Press: p. 1-17.

Bourkache R., Bousseguen N., 2015 : Essai de phytoremédiation in-situ et ex-situ d'un sol pollué par les hydrocarbures. Cas des stations-service. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 38p.

Calabrese E.J., Blain R.B., 2009: Hormesis and plant biology. *Environmental Pollution*. Vol. 157. pp: 42- 48. Morris K., Mackerness S.A.H., Page T., 2000 : Salicylic acid has a role in regulating gene expression during leaf senescence. *The Plant Journal*. Vol. 23. pp: 677–685.

Carnicer p., 2007: la pollution ponctuelle des sols: le cas de station service dans la région de bruxelle-capitale. Mémoire, diplôme d'étude spécialisé en gestion de l'environnement. université libre de bruxelle. 154p.

Chaîneau C.H., Morel J.L., Oudot J., 1996: Land treatment of oil based drill Cuttings in an agricultural soil. *Journal of Environmental Quality*. Vol. 25. N° 4. pp: 858-867.

Chaîneau C.H., Morel J.L., Oudot J., 1997 : phytotoxicity and plant Uptac of fuel oil hydrocarbons .J.Environ.Qual.Vol 26.Pp : 1478-1483.

Chaperon, S., Sauvé, S., 2007. Toxicity interaction of metals (Ag, Cu, Hg, Zn) to urease and dehydrogenase activities in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 39, 2329-2338.

Chaux., Foury., 1994 : Production légumière, légumineuses potagères, légumes fruits. Tome 3. Lavoisier, Paris. 578p

Chergi R., Dahmani Y., 2009 : Essai de décontamination d'un sol pollué naturellement par les hydrocarbures par deux techniques biologiques (biostimulation et bioaugmentation). Mémoire d'ingénieur d'état en biologie. UMMTO. 65p.

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

Curry J. P., 1998. Factors affecting earthworm abundance in soils. In: Edwards, C. A. (eds), *Earthworm Ecology*. Boca Raton, St. Lucie Press, 389 p.

Dawson, J.J.C., Godsiffe, E.J., Thompson, I.P., Ralebitso-senior, T.K., Killham, K.S. et Paton, G.I. (2007). Application of biological indicators to assess recovery of hydrocarbon impacted soils. *Soil Biology and Biochemistry* 39(1) p.164-177

Demuyère R., 2011 : Développement d'un indice mesurant la stabilité enzymatique relative des sols pour évaluer l'impact d'une contamination organique complexe sur la qualité de sols dans un contexte de remédiation. Mémoire en Génie chimique. Université de Montréal. 188p

Delage P. et Schrefler B., 2005. Géomécanique environnementale : sols pollués et déchets. Lavoisier. 249 p.

Deni, J. et Penninckx, M.J. (1999). Nitrification and Autotrophic Nitrifying Bacteria in a Hydrocarbon-Polluted Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(9) p.4008-4013

Dommergues Y., 1968 : Principes de méthodologie en microbiologie en microbiologie du sol. Nouveaux documents pour une étude intégrée en écologie du sol. pp : 13-30. Edt Centre National de la Recherche Scientifique.

Doran J.W., et Safley M., 1997: Defining and Assessing Soil Health and Sustainable Productivity. Biological Indicators of Soil Health. C.E. Pankhurst, B.M. Doube et V.V.S.R.Gupta. United Kingdom, Cab international. p : 1-28.

Duc G., 1997: Faba bean (*Vicia faba L.*). Field Crops Research. Vol. 53. pp: 99-109.

Duchaufour P., 2001: Introduction à la science du sol: sol, végétation et environnement. 6^{ème} édition MASSON. Paris Milan Barcelone. 498p.

Chaîneau C.H., Morel J.L., Oudot J., 1996 : Land treatment of oil based drill Cuttings in an agricultural soil. Journal of Environmental Quality. Vol. 25. N° 4. pp: 858-867.

Chocat B., 2004-Pollution par les hydrocarbures dans les eaux de ruissellement et traitabilité: Solution existante, 1ere édition Tec et Doc Lavoisier. pp 289-290

Colin François. (2000). Pollution localisées des sols et sous sols par les hydrocarbures et les solvants chlorés. Rapport N°44, Edition Tec et Doc. Paris. PP 95 -284, V417.

Degranges P., Gugalski T., Leleu M., Greffard J., 1977 : Devenir des hydrocarbures dans les sols. Rapport du BRGM. 77 SGN 114 MGA. 31p.

Doornaert B., Pichard A., 2005 : Analyse et proposition de méthodes d'évaluation de la relation dose-réponse des effets cancérigènes induits par un mélange d'hydrocarbures aromatiques polycycliques. Environnement, Risques et Santé. Vol. 4. N° 3. pp : 205-220.

Eckford R., COOK F. D., SAUL D., AISLABIE J., et FOGHT J., (2002). Free-Living Heterotrophic Nitrogen-Fixing Bacteria Isolated from Fuel-Contaminated Antarctic Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(10): 5181–5185.

Fattal p., 2008. Pollution des cotes par les hydrocarbures. Presse universitaire de Rennes. 498 p.

Fezani S., 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. UMMTO. 73p.

Franennec J. P., Leprince P., Trembouze P. et Favennec J. P., (1998). Le raffinage de pétrole : Pétrole brut-produits pétrolier-schéma de fabrication, Tome 1. *Technip*.

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.

Gendault S.D (2004) Thèse Etude d'un traitement combiné bio-physico-chimique pour la décontamination des eaux polluées en atrazine. P22

Ghides.N., Imarazen .R.;2017 :Contribution à l'étude de l'effet des hydrocarbures (gasoil, essence super) sur la croissance des vers de terre et les caractéristiques du sol. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O.39p.

Ghosh I, Jasmine J., Mukherji S., 2014: Biodegradation of pyrene by a *Pseudomonas aeruginosa* strain RS1 isolated from refinery sludge. *Bioresource Technology*. Vol.166. pp: 548–558.

Girard M., Walter C., Remy C., Bertherlin J., Morel J.L., 2005 : Sol et environnement. Edition DUNOD, Paris. 799p

Guan S.Y., 1986: Soil enzymes and research methods in Chinese. China Agricultural Science Press. pp: 274–323.

Hamdi H., Benzarti S., Manusadzianas L., Aoyama I., Jedidi N., 2007: Bioaugmentation and biostimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 39. N°8. pp : 1926-1935

Hamitouche.G., Henadci.R.,2018 :Comparaison de l'efficacité des techniques de dépollution (Phytoremédiation, Biostimulation et Bioaugmentation) d'un sol contaminé aux hydrocarbures . Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 37p.

Illovcic S. et Bonnarne V., 2012. Ces plantes qui guérissent l'habitat phytoépuration et génie végétale .Ed EYROLLES. Institut Français d'Urbanisme – Université Paris. 130 p

Jeannot .R.,Lemiere .B.,Chiron .S avec la collaboration de : F. Augustin, D.Darmendrail, (2001)- Guide méthodologique pour analyse des sols pollués (Document du BRGM 298).Editions BRGM.

Jourdain M. J., Charissou A. M., 2007 : Etat des connaissances sur le devenir de polluants organiques dans les sols lors de la biodégradation naturelle et après biotraitement : Identification des composés « métabolites » et des cinétiques. Rapport final d'étude RECORD N° 05-0513/1A. 148.

Jumeau S., 1999 : Devenir de la contamination en hydrocarbures lors de la mise en dépôt des produits de dragage. Rapport de DEA Sciences et Techniques de l'Environnement. Université Paris XII-Val de Marne.

Kahil L., Issad H., 2014 : Essai de réhabilitation d'un sol pollué aux hydrocarbures par biostimulation. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 50p.

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

Khan S., Afzal M., Iqbal S., Kha Q.M., (2013): plant bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils. *Chemosphere*.vol.90.pp:1317-1332.

Koller E. 2004. traitement des pollutions industrielle (eau, air ; déchets ,sol , boues).Edition DUNOD,paris . Série Environnement et sécurité. L'usine nouvelle. 424p.

Koller E., 2009 : Traitement des pollutions industrielles (eau, air, déchets, sol, boues).Edition DUNOD.Paris .569p

Labud, V., Garcia, C. et Hernandez, T. (2007). Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. *Chemosphere* 66(10) p.1863-1871.

L'ademe ,2006 : Traitement biologique des sols pollués :recherche et innovation. Coordination technique : Frédérique CADIERE - Département Sites et Sols Pollués Direction Déchets et Sols - ADEME (Angers)

Lal, R., Wagner, A., Greenland, D.J., Quine, T., Billing, D.W., Evans, R. et Giller, K. (1997). Degradation and resilience of soils. *Philosophical transactions-Royal Society of London. Biological sciences* 352(1356) p.997-1010.

LINDSTROM, J.E., BARRY, R.P. et BRADDOCK, J.F. (1999). Long-term effects on microbial communities after a subarctic oil spill. *Soil Biology and Biochemistry* 31(12) p.1677-1689.

Liu R., Xiano N., Wei S., Zhao L., An J., (2014): Rhizosphere effects of PAHcontaminated soil phytoremediation using a special plant named Fire Phoenix. *Science of the Total Environment*.vol473-474.pp:350-358.

Larabi T., Moussi K., 2016 : Effet de la dose du semis de la fève (*Vicia faba L.*) sur l'efficacité de la phytoremédiation d'un sol pollué par les carburants. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. U.M.M.T.O. 32p.

Lecomte P. (1998) *Les sites pollués : traitement des sols et des eaux souterraines*, deuxième édition, Technique & Documentation, Lavoisier, Paris.75p.

MALISZEWSKA-KORDYBACH, B. et SMRE CZAK, B. (2003a). Changes of Soil Microbial Properties in the Course of Pah Dissipation in Soils Artificially Contaminated with These Compounds. *Polycyclic Aromatic Compounds* 23(1) p.1 - 21.

Maila, M.P. et Cloete, T.E. (2005). The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants--perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation* 55(1) p.1-8.

Marchal R., Penet S., Solano S.F., Vandecasteele J.P., 2003: Gasoline and Diesel Oil Biodegradation. *Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP*. Vol. 58. N° 4. pp: 441- 448.

Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F., 2000: Monitoring of bioremediation by soil biological activities. *Chemosphere*.Vol. 40. pp: 339–34.

Margesin, R., Walder, G. et Schinner, F. (2000a). The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil. *Acta Biotechnologica* 20(3-4) p.313-333

Morel J.L.(2012). Phytoremédiation des sols contaminés des plantes pour guéri les sols .l'institut national de la recherche agronomique (INRA) .28P.

Murata, T., Kanao-Koshikawa, M., Takamatsu, T., 2005. Effects of Pb, Cu, Sb, In and Ag contamination on the proliferation of soil bacterial colonies, soil dehydrogenase activity, and phospholipid fatty acid profiles of soil microbial communities. *Water Air and Soil Pollution* 164, 103-118.

Murphy E.M., Zachara J.M., Smith S.C., 1990: Influence of mineral-bound humic substances on the sorption of hydrophobic organic compounds. *Environmental Science and Technology*. Vol. 24. N° 10. pp: 1507-1516.

Nannipieri, P., Kandeler, E. et Ruggiero, P. (2002). Enzyme Activities and Microbiological and Biochemical Processes in Soil. *Enzymes in the Environment: Activity, Ecology, and Applications*. R.G. Burns et R.P. Dick, Marcel Dekker, Inc: p. 1-34.

Njoku K.L., Akinola M.O., AND OBOH B.O., 2009: phytoremediation of crude oil contaminated soil: the effect of growth of *glycine max* on the physico-chemistry and crude oil contents of soil. Department of Cell Biology and Genetics. University of Lagos, AkokaLagos, Nigeria. Vol. 7. N°10. pp 79-87

NORINI M.P., 2007 : Ecodynamique des hydrocarbures aromatiques polycycliques et des communautés microbiennes dans les sols à pollution mixte (HAP, métaux) avant et après traitement par biopile et par désorption thermique. Thèse de Doctorat, université Henri Poincaré, Nancy I.Pp :75-90.

Nyabyenda P.2005 : Les plantes cultivé en regions tropicales d'altitudes d'afrique .Edition les presses agronomiques de Gembloux.465pp

Nwinyi O. C., Kanu I. A., Tunde A., Ajanaku K. O., 2014 : Characterization of Diesel Degrading Bacterial Species from Contaminated Tropical Ecosystem. *Braz. Arch. Biol. Technol*. Vol. 57. N° 5. pp: 789-796.

Ould Rabah Nassera., 2011: Essai de phytoremédiation des sol contamines par les hydrocarbures. thèse de magister en chimie de l'environnement. Université de Mouloud Mammeri de Tizi ouzou.facultes des sciences, département de chimie

Oultaf L., 2015 : Etude comparative de l'efficacité de trois techniques de remédiation (phytoremédiation, biostimulation, bioaugmentation) sur des sols pollués par les carburants. Mémoire de Magister. U.M.M.T.O. 90p.

Patej S., 2002 : Etude de scénarios dangereux en stations-service. Rapport final de l'INERIS DRA 40862. 38p.

Pena, W., Trasar-Cepeda, C., Gil-sotres, F. et Leiros, M.C. (2007). Modification of the degradative capacity of a soil artificially contaminated with diesel. *Chemosphere* 67(5) p.1057-1063.

Pilon-Smits. E., 2005: Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Biol.* Vol. 56. pp: 15-39.

Pimsee P., 2014 : Etude du comportement des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) lors du déversement accidentel d'hydrocarbures en eaux continentales. Thèse du Doctorat. Université de Toulouse. 175 p.

Plaza, G., Nalecz-Jawecki, G., Pinyakong, O., Illmer, P. et Margesin, R. (2010). Ecotoxicological and microbiological characterization of soils from heavy-metal- and hydrocarbon-contaminated sites. *Environmental Monitoring and Assessment* 163(1) p.477-488.

Ramade F., 1992. Précis d'écotoxicologie. Ed. Masson, Paris, 300 p.

Riviere J. 1998 : Evaluation des risques écologiques des sols pollués. Edition. Tec & DOC. 193 pp.

Romaniuki R., Brandt J.F., Rios P.R., Giuffré L., 2007: Atenuación natural y remediación inducida en suelos. *CI. SUELO (ARGENTINA)*. Vol.25.Nº.2.PP :139-149.

Rouquerol T., Amir H., Amir A., 1987 : Effets de l'épandage de résidus pétroliers de raffinerie sur l'évolution de la matière organique. L'activité de la densité microbienne d'un sol agricole. *Revue d'écologie et de biologie du sol*. Vol. 24. N° 2. pp : 137-156.

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

Shin, K.-H. et Kim, K.-W. (2001). Ecotoxicity Monitoring of Hydrocarbon-Contaminated Soil using Earthworm (*Eisenia foetida*). *Environmental Monitoring and Assessment* 70(1) p.93-103.

Soltani M., 2004 : Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram – négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse du Doctorat. Université de Paris 6. 284p.

Sonatrach (2010).www. Algérie-energie.com.

Sverdrup, L.E., Ekelund, F., Krogh, P.H., Nielsen, T. et Johnsen, K. (2002). Soil microbial toxicity of eight polycyclic aromatic compounds: Effects on nitrification, the genetic diversity of bacteria, and the total number of protozoans. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21(8) p.1644-1650

Tabatabai, M.A., 1994. Soil Enzymes, In: Weaver, R.W., Angle, J.S., Bottomlry, P.S. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2 - Microbiological an Biochemical Properties*. SSSA Book series number 5, Madison .

Tabatabai, M.A., Dick, W.A., 2002. Enzymes in Soil: Research and Developments in Measuring Activities, In: Burns, R.G., Dick, R.P. (Eds.), *Enzymes in the Environment: Activity, Ecology and Applications* Marcel Dekker, New York, pp. 567-596.

Tanee F. B. G., Kinako P.D.S., 2008: Comparative Studies of Biostimulation and Phytoremediation in the Mitigation of Crude Oil Toxicity in Tropical Soil *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* Vol. 12. N°2. pp: 143-147.

Tejada, M., Gonzalez, J.L., Hernandez, M.T. et Garcia, C. (2008). Application of different organic amendments in a gasoline contaminated soil: Effect on soil microbial properties. *Bioresource Technology* 99(8) p.2872-2880.

Tissot, B.P. and Welte, D.H., 1984. *Petroleum formation and occurrence*. Springer, Berlin.

Tronczynski, J., Marty, J.C., Scribe, P., Lorre, A. and Saliot, A., 1985. Marqueurs chimiques indicateurs des activités microbiologiques: cas des acides gras dans l'estuaire de la Loire. *Oceanis* 11, 399-408.

Vazquez, S., Nogales, B., Ruberto, L., Hernandez, E., Christie-Oleza, J., Lobalbo, A., Bosch, R., lalucat, J. et Mac cormack, W. (2009). Bacterial Community Dynamics during Bioremediation of Diesel Oil-Contaminated Antarctic Soil. *Microbial Ecology* 57(4) p.598-610.

Vidali M., 2001. Bioremédiation an overview. Pure appl. chem. 222 p.

Vogel T. M., 1996: Bioaugmentation as a soil bioremediation approach. Current opinion in Biotechnology, 7: 311-316.

Vinas, M., Sabate, J., Espuny, M.J. et Solanas, A.M. (2005). Bacterial Community Dynamics and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Degradation during Bioremediation of Heavily Creosote-Contaminated Soil. Appl. Environ. Microbiol. 71(11) p.7008-7018.

Résumé :

Le présent travail a pour objectifs de tester l'efficacité de quelques techniques biologiques dans la décontamination d'un sol contaminé par les hydrocarbures par le biais de l'évaluation des paramètres biologiques.

Les résultats obtenus ont montré que les indicateurs biologiques de la qualité du sol présentaient des valeurs faibles après bioaugmentation et phytoremédiation, ce qui signifie que ces dernières ont dégradé de façon plus efficace les hydrocarbures dans le sol par rapport à l'atténuation naturelle et biostimulation.

La phytoremédiation s'est avérée être la plus efficace vu la faible quantité résiduelle d'hydrocarbures et la disparition de certaines fractions de ceux-ci.

Les mots clés : les hydrocarbures, phytoremédiation, biostimulation, bioaugmentation, atténuation naturelle, la qualité biologique du sol.

Abstract:

The present work aims to test the effectiveness of some biological techniques in the decontamination of hydrocarbon-contaminated soil through the evaluation of biological parameters.

The results showed that the biological indicators of soil quality had low values after bioaugmentation and phytoremediation, which means that the latter degraded soil hydrocarbons more efficiently than natural attenuation and biostimulation.

Phytoremediation proved to be the most effective given the small residual amount of hydrocarbons and the disappearance of some fractions thereof.

Key words : hydrocarbons, phytoremediation, biostimulation, bioaugmentation, natural attenuation, soil biological quality.