

République Algérienne Démocratique 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 écologie et environnement

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme Master en Ecologie et environnement

Spécialité: PROTECTION DES ECOSYSTEMES

**Etudes physicochimique et
microbiologique d'un sol pollué aux
hydrocarbures aux cours de la
phytoremediation**

Présenté par:

M^{elle} LACEB Kamilia

Devant le jury :

Présidente : M^{me} LARDJANE Nadia	professeur	UMMTO
Promotrice : M^{me} CHIBANE Gouraya	MACA	UMMTO
Co-promotrice : M^{me} SAADI Leila	Responsable laboratoire	CRD
Examinatrice : M^{me} DERMECHE Samia	MCA	UMMTO

Soutenu le 30/09/2025

Année universitaire: 2024/2025

Remerciements

Avant toute chose, je rends grâce à Dieu Tout-Puissant, le Clément et le Miséricordieux, qui m'a accordé la santé, la patience et la force nécessaires pour mener à bien ce travail.

Je tiens ensuite à exprimer ma profonde gratitude à ma promotrice *Mme CHIBANE G* pour ses conseils précieux et ses encouragements constants. Sa confiance m'a beaucoup aidée à avancer avec sérénité et détermination.

Mes remerciements les plus sincères vont également à ma Co-promotrice *Mme SAADI L* pour son soutien, ses remarques constructives et ses orientations qui ont enrichi et perfectionné ce travail.

J'exprime également ma gratitude aux membres du jury *Mme LARDJANE N*, et *Mme DERMECHE S* qui m'ont honoré en acceptant de juger ce modeste travail.

Je remercie aussi l'ingénieur des laboratoires communs de la faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques *Mme ABROUSSE H* pour sa disponibilité, son soutien et encouragement.

Un immense merci pour *M.DIB* Je lui adresse ma profonde reconnaissance pour tous les efforts qu'il y a consacrés.

Je tien a remercier chaleureusement *M .MOUKADEM H*, et *M. BEN AISSA F* ,pour m'avoir donné la chance d'effectuer mon travail au sein de des laboratoire d'environnement de la division laboratoire *SONATRACH* , sans oublier *M . LALLAM .N* qui a contribué a la réussite de mon stage.

Je souhaite adresser une reconnaissance particulière à toute l'équipe de la division laboratoire de *SONATRACH*, pour leur accueil chaleureux, leur disponibilité et l'aide précieuse qu'ils m'ont apportée lors de la réalisation des analyses et de l'expérimentation. Leur professionnalisme et leur collaboration ont été d'un grand apport à la réussite de ce mémoire Enfin j'adresse mes remerciement pour mes parents source d'amour du courage de force ; et toute ma familles et amis Je vous remercie infiniment pour vos aides, vos soutiens, vos conseils, vos écoutes attentives et pour vos continuelles ambiances chaleureuses et conviviales.

Merci pour tous ceux qui ont aidés et ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire avant tout à mes parents bien-aimés, qui ont été mes premiers enseignants dans la vie et mes plus grands soutiens. Leur amour, leurs sacrifices et leurs encouragements sont la source de ma réussite.

À mes frères bien-aimés SEDDIK, LARBI, KOCEILA, MISSIPSA qui ont toujours cru en moi, partagé mes joies et mes peines, et m'ont soutenue dans chaque étape de ma vie. Ce mémoire est aussi le fruit de votre présence et de votre affection.

Je dédie ce mémoire à mon fiancé WALID, compagnon de mes rêves et de mes projets. Ton soutien infaillible, tes mots réconfortants et ta confiance en moi m'ont donné la force d'aller jusqu'au bout. Ce travail est le reflet non seulement de mes efforts, mais aussi de ton appui.

Pour ma sœur LIZA, la plus douce qui a été toujours là pour mon écoute, mes chères cousines IMANE et DIHYA.

À mon tonton ABEDESSLAM BELKACEM qui ma toujours encouragée et qui ma considéré comme l'une de ces filles un merci ne sera jamais suffisant.

Pour toute ma famille yemma mes tantes mes oncles mamy chacun à son nom

À ma meilleure amie KENZA merci d'être toujours là pour moi.

A tous ceux qui m'ont donné le courage et le soutien moral pour réaliser ce

Travail.

Listes d'abréviation

- AFES : Association Française pour l'Étude du Sol
 - FAO : l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
 - HC : hydrocarbure
 - ITMAS : Institut De Technologie Moyen Agricole Spécialisé
 - INRF : Institut National de Recherche Forestière
 - MB : moutarde blanche
 - BN : brassica napus
 - L : luzerne
 - A : avoine
 - C : contaminé
 - NC : non contaminé
 - ETM : Élément-trace métallique
 - DRX : Analyse par diffractométrie des rayons X
 - LCK : lange cell kuvette
 - COT : carbone organique total
- MO : matière organique
- DCO : demande chimique en oxygène
 - GC/FID : Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme.
 - TSA : gélose au soja trypticase
 - API : Appareillage et Procédé d'Identification

Liste de figures

Figure1 : Fonctions des sols (FAO 2015).....	5
Figure 2 : Sort possible des polluants lors de la phytoremediation.....	12
Figure 3 : La luzerne (<i>Medicago sativa</i> L.)(drsoleil.fr).....	16
Figure4 : brassica napus (naturamediterraneo)	16
Figure 5 : moutarde blanche sinapis alba (enviedejardin)	17
Figure 6: avoine avena sativa (/fleurdepeautempo)	17
Figure 7:le dispositif expérimental de l'essai au laboratoire	19
Figure 8: mise en place des cultures au laboratoire le 09/03/2025	19
Figure 9: Montage expérimental de l'extraction par Soxhlet	24
Figure 10:Équipement de concentration par évaporation sous vide	25
Figure 11 : Préparation des suspensions bactérienne au laboratoire.....	26
Figure 12 : Balance	27
Figure 13: Préparation de milieu de culture au laboratoire	27
Figure 14 :coulage des boites pétries au laboratoire	27
Figure 15 : Ensemencement des boites pétries	28
Figure 16 : Incubation des boites pétries	28
Figure 17 : Schéma récapitulatif des protocoles de préparations des suspension bactérienne	29
Figure18 : Les galeries API 20 E	30
Figure 19 : Ensemencement des galeries API 20 E.....	31
Figure 20 : Incubation des galeries API 20 E	31
Figure 21 : Taux de germination des espèces végétales	33
Figure 22 : Nombres de feuilles et nombre de tiges dans un sol cultivé avec la moutarde blanche.....	34
Figure 23 : nombre de feuilles et nombre de tige dans un sol cultivé avec la brassica napus	34
Figure 24 : nombre de feuilles et nombre de tige dans un sol cultivé avec luzerne.....	35

Figure 25 : nombre de feuilles et nombre de tige dans un sol cultivé avec l'avoine	35
Figure 26 : longueur des tiges des quatre espèces végétales	36
Figure 27 : longueur racinaire des quatre espèces végétales	37
Figure28 : la masse aérienne des espèces végétales.....	37
Figure29 : la masse racinaire des espèces végétales	38
Figure 30: Histogramme de la distribution des différentes phases granulométriques du SOL	39
Figure31 : Diffractogramme du sol contaminé	40
Figure 32 : les différents pH des sols cultivé.....	41
Figure 33 :Conductivité du sol non contaminé et du sol contaminé cultivé par les différentes espèces	42
Figure 34: résultats d'indicateur de pollution dans un sol cultivé avec la luzerne	42
Figure35 : résultats d'indicateurs de pollution Dun sol cultivé avec la brassica napus	43
Figure 36: résultats d'indicateurs de pollution Dun sol cultivé avec la moutarde blanche	44
Figure 37 : résultats d'indicateurs de pollution Dun sol cultivé avec l'avoine.....	44
Figure 38: spectre FTIR de sol non contaminé non cultivé	45
Figure 39 : spectre FTIR de sol non contaminé cultivé avec luzerne	45
Figure 40 : spectre FTIR de sol non contaminé cultivé avec MB.....	46
Figure 41 : spectre FTIR de sol non contaminé cultivé avec BN	47
Figure 42 : spectre FTIR de sol non contaminé cultivé avec l'avoine	48
Figure 43 : résultats d'analyse GC/FID des sols.....	48
Figure 44: résultats du dénombrement de luzerne	49
Figure 45: résultat du dénombrement de brassica.....	50
Figure 46 : résultat du dénombrement de moutarde blanche.....	50
Figure 47 : résultat du dénombrement de l'avoine.....	51
Figure 48 : résultat du dénombrement du sol contaminé et non contaminé	51

Listes de tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques chimiques de l'échantillon du sol de l'ITMAS (ZEBICHE BAYA ET SEMAANI LEYLA.2014/2015)	15
Tableau 2 : les résultats des galeries API 20 E	52

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Listes d'abréviation

Liste de figures

Listes de tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Sol3

1.1 Définition3

1.2 Constituant du sol3

1.3. Propriétés du sol3

1.3.1 Propriétés physiques3

1.3.2 Propriété chimique.....4

1.3.3 Propriétés microbiologiques.....5

1.4 Fonctions du sol.....5

2. Hydrocarbures6

2.1 Définition6

2.2. Origines des hydrocarbures.....6

2.2.1 Origine biotique des hydrocarbures.....6

2.2.2 Origine abiotique des hydrocarbures7

2.3 Propriétés des hydrocarbures7

2.4 Sources de pollution des hydrocarbures7

2.5 Devenir des hydrocarbures dans le sol8

2.6. Effet éco-toxicologique des hydrocarbures.....8

3. Microbiologie des sols9

3.1 Rôle des microorganismes9

3.2 Facteurs de dégradation des Hydrocarbures10

4. Phytoremediation.....11

4.1 Définition11

4.2 Principe de la phytoremediation.....	11
4.3 Mécanismes de phytoremediation	11
4.4 Avantage et inconvénients de la phytoremediation.....	13

Chapitre II : Matériels et Méthode

1. Matériel.....	15
1.1 Sol.....	15
1.2 Espèces végétales	16
1.2.1 Luzerne.....	16
1.2.2 Brassica Napus.....	16
1.2.3 Moutarde blanche.....	17
1.2.4 Avoine.....	17
2 Méthodes	18
2.1 Préparation du sol	18
2.2 Mise en place des cultures	18
2.3 Test de germination	20
2.4 Évaluation des effets des HC sur la croissance des plantes	20
2.4.1 Nombre de tiges.....	20
2.4.2 Nombre de feuilles.....	20
2.4.3 Masse aérienne	20
2.4.4 Masse racinaires.....	20
2.4.5 Longueur des parties aériennes.....	20
2.4.6 Longueur des parties racinaires	20
2.5 Analyse physicochimique	21
2.5.1 La granulométrie du sol	21
2.5.2. Analyse par diffractométrie des rayons X (DRX)	21
2.5.3 Mesure du potentiel hydrogène	21
2.5.4 La conductivité électrique.....	21
2.5.5 Indicateurs de pollution.....	22
2.5.5.1 système de teste en cuve LCK méthode de HACH	22
2.6. Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier	23
2.6.1. Analyse chromatographique GC/FID	23

2.6.2 Extraction au soxhlet.....	24
2.7 Analyse microbiologique	25
2.7.1 Préparation de solution mère	25
2.7.2 Préparation des suspensions bactériennes	25
2.7.3 Préparation des milieux de cultures	26
2.7.4 L'ensemencement et incubation	28
2.7.5 Le dénombrement des colonies bactériennes	30
2.7.6 Isolement et identification par la galerie API 20 ^E	30
2.7.6.1 Les tests biochimiques les galeries API 20 E	30
2.7.6.2 techniques des galeries (API 20 E).....	30
2.8 .Analyse statistique	32

Résultats et discussion

1. Taux de germination.....	33
2. Evaluation des effets des HC sur la croissance des plantes	33
2.1 Nombre de feuilles et nombre de tiges	33
2.2 Longueur aérienne	36
2.3 Longueur racinaire.....	36
2.4 Masse aérienne	37
2.5 Masse racinaire.....	38
3. analyses physicochimiques	39
3.1 La granulométrie du sol	39
3.2 Analyse par diffractométrie des rayons X (DRX).....	40
3.3. Mesure du potentiel d'hydrogène pH	41
3.4 Mesure de conductivité électrique.....	41
3.5 Indicateur de pollution	42
3.6Analyse par spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	45
3.7. Analyse chromatographique GC/FID	48
4. Analyse microbiologique	49
4.1 Dénombrement microbien.....	49
Discussion	54
Conclusion générale	61

Références bibliographiques

Annexe



Introduction

Introduction

Depuis plusieurs décennies, la pollution par les hydrocarbures constitue l'une des menaces environnementales les plus préoccupantes à l'échelle mondiale. En raison de l'exploitation pétrolière, du transport maritime, des activités industrielles et des rejets urbains, de grandes quantités d'hydrocarbures sont introduites chaque année dans l'environnement (Rahma, 2017). Les déversements accidentels, tels que les marées noires, ainsi que les fuites chroniques issues des activités pétrolières, entraînent une contamination persistante des sols et des écosystèmes aquatiques (Khelifi, 2020).

En Algérie, la pollution par les hydrocarbures est une problématique environnementale majeure, particulièrement dans les zones pétrolières ainsi qu'autour des stations-services et zones industrielles. Les rejets d'hydrocarbures modifient les propriétés physico-chimiques du sol (pH, humidité, matière organique, sels minéraux) et perturbent fortement l'activité biologique (Nesri & Kouidri, 2019). Des constats soulignent l'urgence de mettre en place des stratégies de dépollution adaptées, notamment la bioremédiation et la phytoremédiation, afin de limiter les impacts écologiques et sanitaires de cette pollution persistante.

Ces composés organiques, constitués principalement d'hydrocarbures aromatiques et aliphatiques, se distinguent par leur toxicité élevée, leur persistance dans l'environnement et leur capacité à s'accumuler dans les chaînes alimentaires (Mansouri, 2019). Leur impact ne se limite pas à la dégradation des écosystèmes naturels : ils compromettent également la qualité des sols, réduisent leur fertilité et représentent un risque pour la santé humaine, notamment par leur potentiel cancérigène et mutagène.

La dépollution des sols contaminés par les hydrocarbures repose traditionnellement sur des techniques physiques et chimiques (Rahmani, 2018). Aujourd'hui, des méthodes dites biologiques se sont développées. La bioremédiation, qui utilise les microorganismes indigènes ou introduits pour dégrader les hydrocarbures, constitue une alternative écologique et durable. (Khelifi, 2020).

Dans ce contexte, la phytoremédiation est apparue comme une approche prometteuse. Cette technique repose sur l'utilisation de plantes capables de tolérer, absorber, dégrader ou stabiliser les polluants (Ait Yahia, 2017). Ainsi, la phytoremédiation se présente aujourd'hui comme une stratégie innovante et durable pour la dépollution des sols pollués par les hydrocarbures, particulièrement adaptée aux pays en développement comme l'Algérie.

La microflore du sol joue un rôle central dans les processus de dépollution biologique. Les bactéries hydrocarbonoclastes, par exemple, sont capables de dégrader une grande variété de composés pétroliers, transformant les hydrocarbures complexes en produits plus simples et moins toxiques (Benbachir & Moussous, 2022).

L'importance de ce travail réside dans la contribution qu'il apporte à la compréhension et à la valorisation de la phytoremédiation comme technique écologique et durable de dépollution. Dans un pays comme l'Algérie, où les activités pétrolières constituent une ressource économique majeure mais engendrent également une pollution significative des sols, l'exploration de méthodes de dépollution alternatives devient une nécessité.

Nous supposons que la mise en culture de certaines espèces végétales favorise une augmentation significative de la densité et de la diversité microbienne dans la rhizosphère, contribuant ainsi à améliorer la dégradation des hydrocarbures présents dans le sol contaminé.

Dans le cadre de ce travail, l'objectif principal est d'évaluer le potentiel de la phytoremédiation comme méthode de dépollution d'un sol contaminé par les hydrocarbures, tout en mettant en évidence le rôle de la microflore associée.

Ce mémoire est structuré comme suit :

Introduction générale, présentant le contexte de la pollution par hydrocarbures, la problématique et les objectifs de l'étude.

Partie bibliographique, regroupant les données théoriques et travaux antérieurs sur la pollution des sols, la dépollution et la phytoremédiation.

Partie matérielles et méthodes, décrivant les échantillons de sol, les espèces végétales choisies et les méthodes d'analyse physico-chimiques et microbiologiques.

Résultats et discussion, où sont présentées et interprétées les données obtenues.

Conclusion générale et perspectives, résumant les principaux apports du travail et ouvrant des pistes pour de futures recherches.



Chapitre 1 :

Synthèse bibliographique

2. Sol

2.1 Définition

D'après l'AFES (Association Française pour l'Étude du Sol), un sol est un volume qui s'étend depuis la surface de la Terre jusqu'à une profondeur marquée par l'apparition d'une roche dure ou meuble, peu altérée, ou peu marquée par la pédogenèse. L'épaisseur du sol peut varier de quelques centimètres à quelques dizaines de mètres. Il constitue, localement, une partie de la couverture pédologique qui s'étend à l'ensemble de la surface de la Terre. Il comporte le plus souvent plusieurs horizons correspondant à une organisation des constituants organiques et/ou minéraux (la terre). Cette organisation est le résultat de la pédogenèse et de l'altération du matériau parental. Il est le lieu d'une intense activité biologique (racines, faune, micro-organismes) (AFES, 2018).

2.2 Constituants du sol

Bien qu'il existe différents types de sols, ceux-ci comportent toujours une phase solide majoritaire (environ 50%), une phase liquide (en moyenne 25-26%) et une phase gazeuse (en moyenne 22-25%), elles-mêmes constituées de différents éléments (Girard et al. 2011).

1.3. Propriétés du sol

1.3.1 Propriétés physiques

➤ Texture

La texture du sol correspond à la répartition granulométrique, exprimée en pourcentage, des différentes fractions minérales et organiques qui le composent, notamment le sable grossier et fin, le limon, l'argile, ainsi que la matière organique (humus) et le calcaire. (Soltner, 2011).

➤ Porosité du sol

La porosité correspond au volume des vides du sol, occupés soit par l'air, soit par l'eau, et s'exprime en pourcentage du volume total. Elle constitue un facteur essentiel qui détermine à la fois la circulation des fluides et la capacité de rétention en eau des substrats. (Duchaufour, 2001).

➤ perméabilité du sol

Selon (koller2004) (La perméabilité du sol exprime sa capacité à assurer le transfert de l'eau vers les horizons inférieurs. Elle dépend étroitement de la texture et de la porosité du sol. Ce paramètre revêt une importance particulière dans le dimensionnement des réseaux de drainage. Toutefois, sa détermination reste délicate, car elle doit être évaluée uniquement sur un sol en place, non remanié.

➤ Humidité du sol

L'eau présente dans le sol est enrichie en ions ainsi qu'en composés minéraux et organiques. Elle joue un rôle fondamental en assurant le transport de ces éléments et en intervenant dans les processus de solubilisation et de précipitation, influençant ainsi la dynamique chimique du sol. (Dajoz, 2000).

1.3.2 Propriété chimique

➤ Potentiel d'hydrogène pH

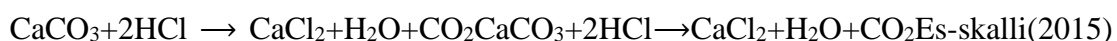
L'acidité du sol est déterminée par la concentration en ions hydrogène (H^+) présents dans la solution du sol. Le pH, défini comme le cologarithme décimal de cette concentration, traduit l'acidité actuelle du sol. Ce paramètre constitue un indicateur essentiel de l'état du complexe adsorbant et du degré de saturation en bases (Duchaufour, 2001).

➤ Conductivité électrique CE

Selon Clement 2009, la conductivité électrique d'une solution du sol constitue un indicateur de la teneur en sels solubles. Elle reflète la concentration en solutés ionisables présents dans l'échantillon et permet ainsi d'évaluer le degré de salinité du sol.

➤ Calcaire total

La détermination du carbonate de calcium total ($CaCO_3$) constitue un critère de classification des sols, permettant de distinguer les sols non calcaires, calcaires et fortement calcaires. L'évaluation de sa teneur repose sur la mesure volumétrique du dioxyde de carbone (CO_2) dégagé à température et pression constantes, lors de la réaction avec l'acide chlorhydrique. Le pourcentage de $CaCO_3$ est alors calculé à partir de l'équation suivante :



1.3.3 Propriétés microbiologiques

Les communautés microbiennes du sol constituent l'ultime maillon de la chaîne trophique édaphique. Elles assurent la décomposition et la transformation de la matière organique, libérant ainsi le carbone et les éléments nutritifs qu'elle contient et les rendant disponibles pour les végétaux. Par leur activité métabolique, elles participent de manière déterminante aux cycles biogéochimiques majeurs, tels que le cycle du carbone, de l'azote, du phosphore et du soufre. Ces microorganismes favorisent la minéralisation, l'humification et la stabilisation de la matière organique, tout en régulant la disponibilité en nutriments et en influençant la fertilité et la dynamique chimique du sol. Leur rôle est donc essentiel dans le maintien de la productivité des écosystèmes terrestres et dans la durabilité des agro-écosystèmes. (Chantigny, 2005)

1.4 Fonctions du sol

En 2015, proclamée *Année internationale des sols*, l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) a publié une infographie synthétisant la diversité des fonctions écologiques, économiques et sociales assurées par les sols :



Figure 1 : Fonctions des sols (FAO 2015).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Selon la (FAO) les sols fournissent une diversité de services éco systémique indispensables à la vie sur terre tel que :

Production : fourniture d'aliments, de fibres et de combustibles

- Régulation : purification de l'eau rééducation des contaminants, régulation des climats
- Cycles biogéochimique : séquestration du carbone et recyclage des éléments nutritifs
- Biodiversité : habitat pour une grande variété d'organismes
- Support : fondement des infrastructures humaines, fourniture de matériaux de construction
- Patrimoine : conservation des traces culturelles et archéologique.

Les avantages que nous tirons des fonctions du sol sont souvent appelés "services éco systémiques du sol" ; par exemple, une alimentation saine, de l'eau douce, des médicaments naturels, le contrôle de l'érosion, la régulation des maladies, etc.

2. Hydrocarbures

2.1 Définition

Les hydrocarbures sont des composés organiques constitués principalement d'atomes de carbone et d'hydrogène, pouvant occasionnellement contenir quelques atomes d'oxygène ou d'azote, sans toutefois former de groupements fonctionnels spécifiques. Ils revêtent une importance économique majeure en raison de leurs multiples usages : carburants, combustibles, huiles lubrifiantes, ainsi que matières premières essentielles pour la synthèse pétrochimique(Fattal, 2008).

2.2. Origines des hydrocarbures

2.2.1 Origine biotique des hydrocarbures

Les hydrocarbures sont principalement issus de matières organiques ayant migré puis subis une transformation progressive sous l'effet de la maturation thermique. Cette évolution, marquée par des modifications physico-chimiques croissantes, confirme leur origine biotique (Watt et al., 2022).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

2.2.2 Origine abiotique des hydrocarbures

Les systèmes hydrothermaux alcalins ont la capacité de synthétiser des hydrocarbures à longue chaîne (jusqu'à C₂₄) par réduction du bicarbonate en présence de métaux tels que le fer et le cobalt. Ces processus soutiennent l'hypothèse de la formation abiotique des hydrocarbures dans les environnements hydrothermaux naturels. (D. He et al., 2021)

2.3 Propriétés des HC

viscosité

La viscosité des hydrocarbures, définie comme leur résistance à l'écoulement, dépend principalement de la proportion relative de fractions légères et lourdes qu'ils contiennent, ainsi que de la température. Un hydrocarbure présentant une viscosité inférieure à 200 cP se caractérise par une dispersion aisée dans le milieu environnant. (Gouhier, 2014)

Densité

La densité constitue un paramètre essentiel dans le comportement des hydrocarbures en phase liquide au sein d'un aquifère. Lorsqu'elle est supérieure à celle de l'eau, le produit tend à s'accumuler au niveau du substratum imperméable. À l'inverse, lorsqu'elle est inférieure, il forme une nappe flottante à la surface de l'aquifère. (Colin, 2000).

Solubilité

La solubilité est un paramètre qui indique la capacité d'un composé à se dissoudre dans l'eau. Les hydrocarbures, en général, sont faiblement solubles. Toutefois, ils peuvent être entraînés dans le sol par les eaux d'infiltration. Les hydrocarbures les plus solubles représentent un risque environnemental plus important, car ils se dispersent plus facilement dans les milieux aquatiques et peuvent contaminer les nappes phréatiques. (Chaineau & Morel J.L., Oudot J, 2000)

2.4 Sources de pollution des HC

- **Sources naturelle**

Les principales sources naturelles d'hydrocarbures sont les prairies et les feux de forêt. D'autres existent également, comme les éruptions volcaniques, l'érosion des roches, les fuites

Chapitre I : Synthèse bibliographique

des réservoirs naturels, ainsi que la production d'hydrocarbures par certaines plantes supérieures et par les algues (GERARD, 2005).

- **Source anthropique**

Les activités anthropiques constituent une source majeure de contamination par les hydrocarbures. Parmi celles-ci, on distingue particulièrement les activités industrielles, l'exploitation du pétrole et de ses dérivés (gasoil, diesel, kérosène), ainsi que les processus de combustion incomplète des combustibles fossiles. Ces pratiques contribuent de manière significative à l'accumulation des hydrocarbures dans l'environnement. (Peixoto et al. 2011)

2.5 Devenir des HC dans le sol

Volatilisation

Les hydrocarbures légers présentent une forte volatilité et une grande mobilité. Ces composés sont rapidement éliminés au cours des premiers jours suivant leur émission, ce qui peut entraîner une contamination significative de l'atmosphère. (Soltani, 2004).

Adsorption

L'adsorption désigne le processus par lequel des molécules (adsorbats) provenant d'un fluide (liquide ou gaz) se fixent à la surface d'un solide (adsorbant), formant une couche à l'interface. Ce phénomène peut être réversible, et peut impliquer des interactions physiques (van der Waals) ou chimiques selon la nature de la surface et de l'adsorbat. (Alaqrbeh, 2021)

Solubilisation

Les hydrocarbures présentent une solubilité très faible dans l'eau. Cette solubilité varie en fonction de leur masse moléculaire : les hydrocarbures légers sont relativement plus solubles que les hydrocarbures lourds. Toutefois, les fractions solubles constituent les plus préoccupantes sur le plan environnemental, car elles sont difficiles à éliminer et peuvent être adsorbées par les organismes végétaux et animaux, entraînant ainsi des effets éco toxicologiques notables. (Soltani, 2004).

2.6. Effet éco-toxicologique des hydrocarbures

La pollution par les hydrocarbures représente un enjeu environnemental majeur en raison de ses impacts sur les microorganismes, la flore, la faune et la santé humaine. Leur

Chapitre I : Synthèse bibliographique

caractère liposoluble favorise leur bioaccumulation dans les tissus biologiques, ce qui entraîne une accumulation progressive dans la faune et la flore. Ce phénomène peut se propager tout au long de la chaîne trophique, amplifiant ainsi les risques éco toxicologiques et sanitaires (Ramade, 2007).

Selon Colin 2000 et Zhang et al. 2010 l'existence et l'intensité des effets nocifs des hydrocarbures dépendent de plusieurs facteurs :

- La nature et la structure chimique des hydrocarbures, qui influencent leur toxicité et leur biodisponibilité ;
- La concentration en hydrocarbures, qui conditionne le niveau d'exposition des organismes ;
- La durée du contact, déterminant l'ampleur des effets aigus ou chroniques ;
- Les cibles biologiques concernées, en fonction de leur sensibilité et de leur capacité de résistance.

3. Microbiologie des sols

3.1 Rôle des microorganismes

Les micro-organismes du sol jouent un rôle fondamental dans le maintien de la fertilité et de la santé des écosystèmes pédologiques. Ils participent activement à divers processus biologiques essentiels au développement des plantes. Parmi leurs principales fonction on distingue :

Décomposition de la Matière organique

Les micro-organismes du sol assurent la décomposition des matières organiques, telles que les résidus végétaux (feuilles mortes, racines) et les déchets animaux. Ce processus aboutit à la libération d'éléments nutritifs sous des formes minérales directement assimilables par les plantes. La décomposition constitue ainsi une étape clé du recyclage des nutriments et contribue au maintien de la fertilité du sol. (Brady & Weil, 2016).

Fixation de l'azote

Certaines bactéries du sol possèdent la capacité de fixer l'azote atmosphérique, en le transformant en composés azotés assimilables par les plantes (ammonium, nitrates). L'azote,

Chapitre I : Synthèse bibliographique

élément nutritif majeur, est indispensable à la croissance et au développement végétal. Ainsi, la fixation biologique de l'azote par les micro-organismes représente une source naturelle et essentielle d'azote pour les écosystèmes terrestres. (Glick & Patten, 2002).

Maintien de la structure du sol

Les micro-organismes du sol participent activement à la formation et au maintien de la structure édaphique. Par la production de polymères extracellulaires et d'autres substances organiques, ils favorisent l'agrégation des particules minérales. Cette activité entraîne la formation d'agrégats stables, améliorant ainsi la porosité, l'aération et la capacité de rétention en eau du sol, des propriétés essentielles au bon fonctionnement des écosystèmes et à la productivité agricole (Six *et al.* 2004).

3.2 Facteurs de dégradation des Hydrocarbures

Structure et nature du sol

D'après Girard *et al.* 2005, la présence d'agrégats réduit indirectement l'activité microbienne du sol. Cette diminution s'explique par le ralentissement de la diffusion de l'oxygène, la limitation de l'apport en nutriments à l'intérieur des unités structurales et la protection mécanique des substrats qu'ils contiennent.

Teneur en oxygène

Ce processus est régi par plusieurs facteurs. Un volume minimal d'air, correspondant à environ 10 %, est généralement requis pour maintenir une activité microbienne adéquate. L'apport en oxygène peut se faire sous différentes formes, notamment par l'utilisation d'oxygène pur ou de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Lecomte, 1998).

Nutriments

Les nutriments, en particulier l'azote et le phosphore, sont indispensables au développement et à l'activité microbienne. Ils représentent ainsi un facteur déterminant dans le processus de bioremédiation naturelle des hydrocarbures (Bireche et Berregui, 2014).

4. Phytoremediation

4.1 Définition

La phytoremédiation est une biotechnologie végétale qui repose sur la capacité des plantes à extraire, immobiliser ou dégrader différents polluants présents dans l'environnement. Elle constitue une alternative intéressante aux techniques traditionnelles de dépollution, car elle présente des avantages écologiques, paysagers et économiques. Cette approche offre ainsi un outil efficace pour la réhabilitation durable des sols et des sites contaminés. (Origo et al 2012). C'est un ensemble de techniques de traitement des sols pollués reposant sur l'utilisation des plantes et de leurs interactions avec les micro-organismes du sol. Ces processus permettent de bloquer, extraire, accumuler, transformer ou détruire divers contaminants environnementaux. (Baize, 2016)

4.2 Principe de la phytoremediation

La phytoremédiation repose principalement sur les interactions entre les plantes, le sol et les micro-organismes qui y résident. Les plantes peuvent absorber les contaminants afin de les métaboliser ou de les stocker, ou encore limiter, voire empêcher, leur transfert vers d'autres compartiments de l'environnement. Certaines espèces sont capables d'extraire les polluants du sol par leurs racines, puis de les transporter et de les accumuler dans différents organes tels que les tiges, les feuilles ou les branches. (Koller, 2009).

4.3 Mécanismes de phytoremediation

On a Plusieurs mécanismes qui permettent aux plantes l'éliminer des polluants par Phytoremédiation

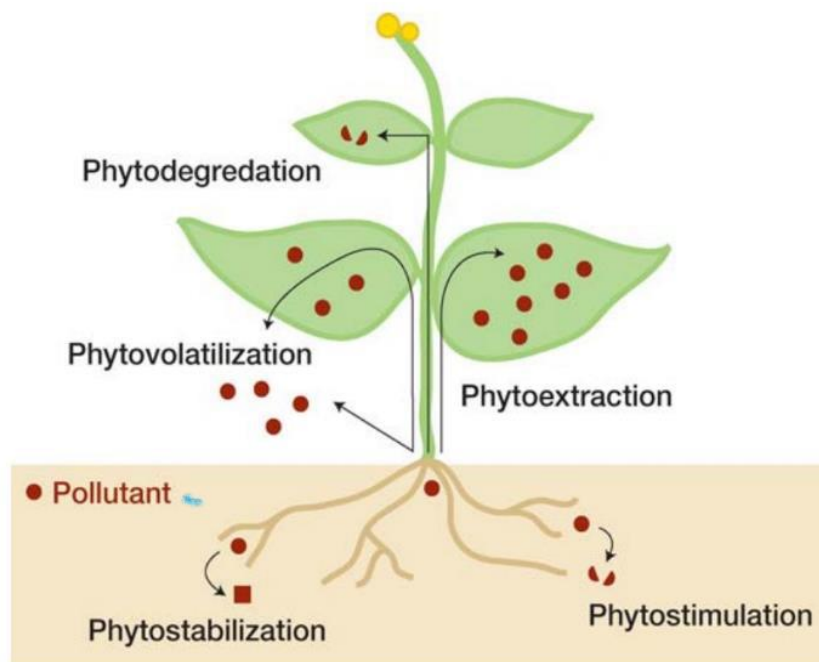


Figure 2 : Sort possible des polluants lors de la phytoremediation : Le polluant (représenté par des cercles rouges) peut être stabilisé ou dégradé dans la rhizosphère, séquestré ou dégradé à l'intérieur du tissu végétal, ou volatilisé (Pilon-Smits, 2005).

Phytoextraction

La phytoextraction repose sur l'utilisation d'espèces végétales tolérantes et hyper accumulatrices capables d'absorber les hydrocarbures présents dans le sol et de les transférer vers leurs parties aériennes. Ces plantes, souvent endémiques de zones métallurgiques, présentent la particularité de concentrer les métaux à des teneurs particulièrement élevées. À l'issue de la culture, la biomasse végétale est récoltée puis incinérée, ce qui permet à la fois de réduire le volume à traiter et de concentrer les métaux dans les cendres. Ces dernières peuvent ensuite être valorisées dans le cadre de procédés métallurgiques. (Koller, 2009)

Phytovolatilisation

Cette approche repose sur l'utilisation de plantes capables d'extraire et d'éliminer les polluants présents dans le sol. Une fois absorbés, ces composés peuvent être transférés vers l'atmosphère par volatilisation, principalement via le processus d'évapotranspiration à travers les stomates des feuilles et des tiges. Les concentrations ainsi libérées dans l'air deviennent

Chapitre I : Synthèse bibliographique

généralement faibles et ne constituent plus un risque significatif pour la santé humaine. Vanobberghen, 2010).

Phytodegradation

Un processus consistant à accélérer la dégradation des composés organiques polluants par l'action des plantes. Cette dégradation peut se produire en dehors de l'organisme végétal, sous l'effet de l'activité microbienne associée à la rhizosphère, ou à l'intérieur de la plante, après absorption du polluant et sa transformation dans les cellules végétales (Koller, 2009).

Phytostabilisation

Elle correspond à l'utilisation de plantes visant à limiter la mobilité et la biodisponibilité des contaminants présents dans le sol ou la rhizosphère. elle se repose sur différents mécanismes, tels que l'immobilisation chimique par précipitation, stabilisation, absorption ou piégeage, ainsi que la réduction des transferts latéraux ou verticaux liés à l'érosion et au lessivage

Phytostimulation

Elle repose sur l'utilisation de plantes capables de stimuler l'activité des micro-organismes présents dans la rhizosphère, entraînant ainsi une intensification des processus de biodégradation (Delage & Schrefler, 2005)

4.4 Avantage et inconvénients de la phytoremediation

avantage de phytoremediation

- une technologie prometteuse, économiquement viable et respectueuse de l'environnement et réduit l'impact des contaminants tout en préservant l'équilibre écologique.(Chen et al. 2019).
- la dépollution par phytoremediation coûte moins cher que celle ayant recours aux techniques classiques et traditionnelles telles que l'incinération ou le lessivage des sols.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

- la dépollution des sols se réalise en minimisant les perturbations de l'environnement. Elle favorise parfois le rétablissement du cycle naturel de dégradation de la matière organique
- l'une des technologies de dépollution les plus rentables, en raison de son efficacité, de son faible coût et de son caractère respectueux de l'environnement (Imron *et al.*, 2020)
- un couvert végétal qui protège le sol
- Elle permet aussi le traitement d'une grande diversité de polluants.

Inconvénients de phytoremediation

La phytoremédiation présente toutefois certaines limites importantes. Elle nécessite que les plantes soient en contact direct avec les polluants, ce qui restreint son efficacité aux zones accessibles par les racines. Ainsi, la profondeur du système racinaire constitue un facteur limitant majeur : elle peut atteindre environ 2 mètres pour les plantes herbacées et plus de 5 mètres pour les arbres. De plus, les propriétés du sol, le niveau de toxicité des contaminants et les conditions climatiques doivent permettre la croissance des espèces végétales choisies.



Chapitre 99 :

Matériels et Méthode

Chapitre II : Matériels et Méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires d'environnement de la division laboratoire SONATRACH situé a BOUMERDES ; Dans le but d'évaluer l'efficacité de quelque graines a remédié un sol contaminé par les HC.

1. Matériel

2.5 Sol

Toute les expériences ont été réalisé sur un sol qui provient d'une parcelle de l'institut technologique moyen d'agriculture (ITMAS) de Boukhalfa de la wilaya de TIZI OUZOU, Les résultats de l'étude du sol de l'ITMAS réalisée dans le laboratoire de pédologie de l'institut National de Recherche Forestière (INRF) montrent qu'il s'agit d'un sol à texture argilo limoneuse et ses caractères chimique sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 1 : Caractéristiques physicochimiques de l'échantillon du sol de l'ITMAS
(ZEBICHE BAYA ET SEMAANI LEYLA.2014/2015)**

Caractéristique chimique	Résultats
pH	8,5
Calcaire total	2,1%
Matière organique	3%
Azote total	0,02%
Carbone organique	1,74%
Rapport C/N	8,7
Conductivité électrique	0,1 mmhos/cm

2.6 Espèces végétales

2.6.1 Luzerne

La luzerne (Medicago sativa L.), est une légumineuse fourragère, une plante vivace de 50 à 80 cm de haut et à tiges dressées et ascendantes très ramifiées. Les feuilles sont trifoliées pétiolées et dentées. *La luzerne* est une plante qui résiste à la pollution par les hydrocarbures.

Elle joue un rôle primordial dans la dépollution grâce à son puissant système racinaire qui procure au sol une bonne aération et stimule l'activité microbienne. Figure (3)



Figure 3 : *La luzerne (Medicago sativa L.)*(drssoleil.fr)

2.6.2 Brassica Napus

Brassica napus appelé aussi la colza issu d'un croisement entre *brassica oleracea* (chou) et *brassica napa* (navet), utilisé comme engrais vert pour son rôle important dans l'amélioration des structures du sol, il est aussi utilisé comme un biocarburant pour produire du biodiesel.



Figure 4 : *brassica napus* (naturamediterraneo)

2.6.3 Moutarde blanche

La moutarde blanche ou *Sinapis alba*, Beaucoup d'espèces de la famille des *Brassicaceae* sont connues pour être des espèces accumulatrices en ETM. Une espèce d'agriculture durable, connu pour sa protection de l'environnement pour ces composés qui ont un effet toxique naturel sur les parasites du sol.



Figure 5 : moutarde blanche *sinapis alba* (enviedejardin)

2.6.4 Avoine

Avoine une graminée hermaphrodite annuelle, *Avena sativa* contient un système racinaire fasciculé et relativement puissant, pouvant s'enraciner jusqu'à plus de 1m50 de profondeur, une légumineuse a plusieurs rôles tel que les érosions ; amélioration des structure et fertilité des sols ; elle a aussi un rôle dans l'amélioration de la biodiversité microbienne.



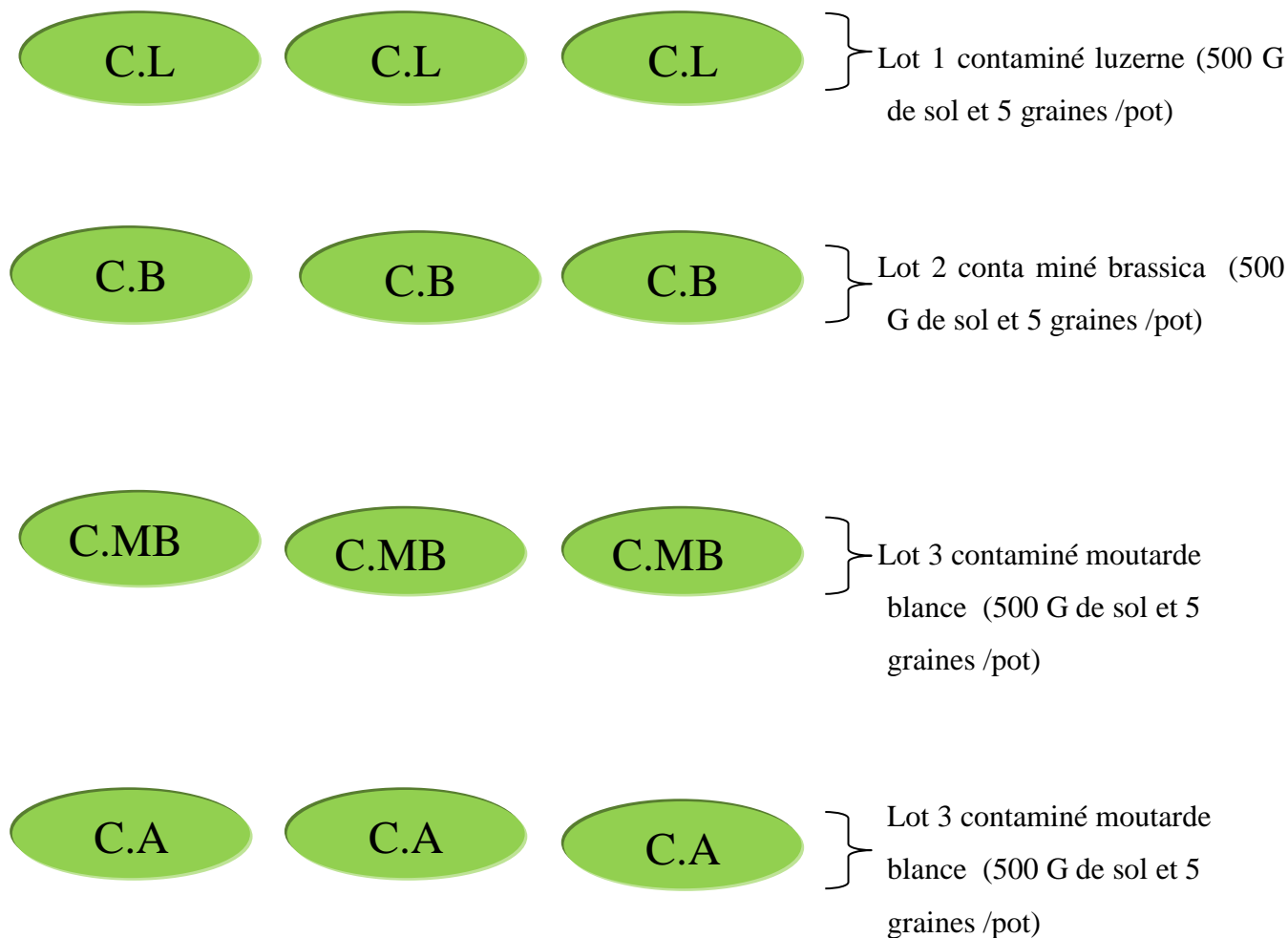
Figure 6 : *avoine avena sativa* (/fleurdepeautempo)

3 Méthodes

3.1 Préparation du sol

Après le prélèvement sur le terrain, le sol a été séché au laboratoire à l'air libre, et à température ambiante pendant plusieurs jours, il est ensuite broyé manuellement à l'aide d'un mortier puis tamisé à 2mm. Ensuite le sol a été divisé en 2 lots, un lot a été contaminé artificiellement, chaque 500 g de sol avec 25g du pétrole brut mélangé manuellement, et l'autre lot gardé à l'état brut comme témoin.(figure 7)

3.2 Mise en place des cultures



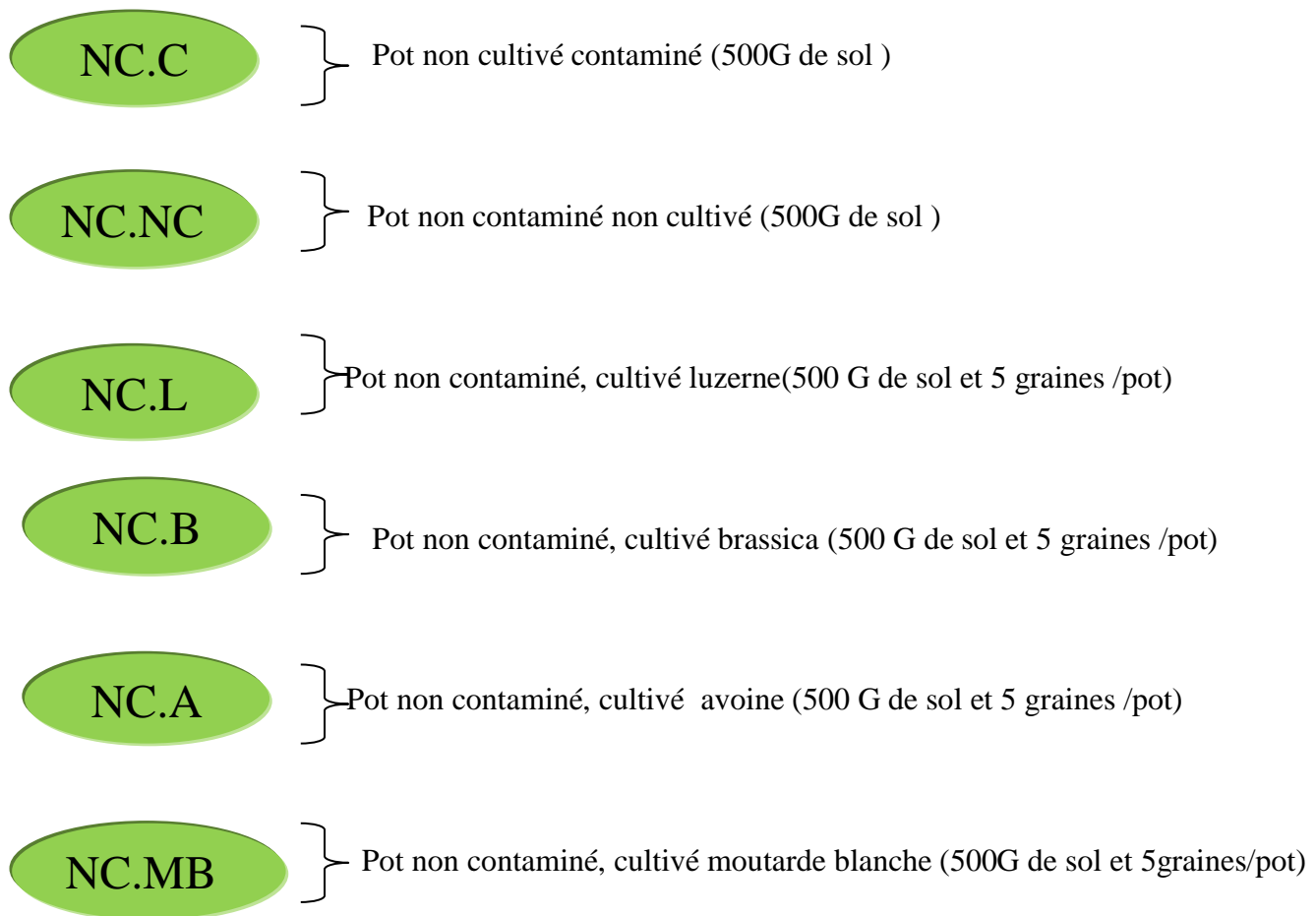


Figure 7: le dispositif expérimental de l'essai au laboratoire



Figure 8 : mise en place des cultures au laboratoire le 09/03/2025

3.3 Test de germination

La germination recouvre la séquence des événements, allant de la graine au repos jusqu'à l'obtention d'une plantule autotrophe ; c'est la transition de la phase de vie latente de la graine sèche à la phase de développement de la plantule. Son objectif est de déterminer le pourcentage de graines germées selon la formule suivante (come D, 1970)

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

3.4 Évaluation des effets des HC sur la croissance des plantes

Afin de voir l'effet des hydrocarbures sur les plantes nous avons procédé à la mesure de quelques indicateurs de croissance. Ces mesures se sont portées sur tous les plantes.

3.4.1 Nombre de tiges

Consiste à dénombrer les tiges des plantes chaque semaine

2.4.2 Nombre de feuilles

C'est dénombrer le nombre de feuilles dans chaque plante.

2.4.3 Masse aérienne

Après la récolte et la séche des plante à l'air libre la partie aérienne étant séparée de la partie racinaire est pesée.

2.5.4 Masse racinaires

Il consiste à peser la partie racinaire une fois séparé de la partie aérienne et sécher à l'air libre.

2.5.5 Longueur des parties aériennes

Elle mesure la croissance en longueur des parties aériennes

2.4.6 Longueur des parties racinaires

Elle mesure la croissance en longueur des racines, une mesure qui se fait sur la racine principale.

2.6 Analyse physicochimique

2.5.1 La granulométrie du sol

L'analyse granulométrique d'un sol a pour objectif de déterminer la proportion relative des différentes classes de particules selon leur taille. Elle permet de classer les sols en sables, limons et argiles, selon la proportion de chaque fraction. Voir annexe 1

2.5.2. Analyse par diffractométrie des rayons X (DRX)

La diffractométrie des rayons X (DRX) est une méthode d'analyse cristallographique permettant d'identifier et de caractériser les phases minérales présentes dans un échantillon solide. Déterminer la composition minéralogique globale des sols, utilisé pour :

- Identifier les minéraux argileux (kaolinite, illite, smectite, chlorite, etc.).
- évaluer l'influence de la minéralogie sur la capacité de rétention et d'adsorption des polluants, notamment les hydrocarbures.
- suivre les modifications minéralogiques au cours de traitements de dépollution comme la phytoremédiation .voir annexe 2

2.5.3 Mesure du potentiel hydrogène

La mesure du pH constitue le test le plus sensible des modifications survenant dans l'évolution des sols.

Le pH mesure la différence de potentiel électrique entre deux électrodes (électrode de référence et l'électrode de verre sensible aux ions H⁺) les deux électrodes forment une pile électrochimique. voir annexe 3

2.5.4 La conductivité électrique

La CE d'une solution du sol est un indice des teneurs en sels solubles dans ce sol elle mesure le pouvoir conducteur d'une eau, cette conductivité dépend du nombre d'ions présents dans la solution et la mobilité des ions présents dans la solution et la mobilité des ions, l'appareil envoie un courant alternatif entre 2 électrodes plongées dans la solution, il mesure la résistance opposée au courant qu'il convertit en conductivité (µs/cm ou ms/cm) .voir annexe 4

2.5.5 Indicateurs de pollution

2.5.5.1 système de teste en cuve LCK méthode de HACH

Préparations des échantillons

Dans le cas du sol polluée aux hydrocarbures on ne peut pas introduire directement les échantillons dans les cuve LCK on doit préparer un extrait liquide par lixiviation :

- Dans un bécher on met 100g de sol à échantillonner
- On rajoute 1 l d'eau distillée
- On met la solution sous agitateurs pendant 24 h
- Laisser décompter pendant 6h
- Filtrer le surnageons avec un filtre 0.45 um
- Passer au dosage dans les kits LCK

Dosage de nitrate LCK 340 (5-35 mg/l)

Dans une solution d'acide sulfurique et phosphorique l'ion nitrate réagissent avec le 2,6 diméthyle phénol pour donner du 4 nitro 2,6 diméthylphénol. voir annexe 5

Dosages nitrite LCK 342 (0.6-0.6.0mg/l)

Les nitrites réagissent en solution acide avec les amines primaires et aromatique pour donner des sels diazonium ceux-ci forment avec des composés aromatique contenant un amino-groupe ou un hydroxyle un colorant azoïque de couleur intense. Voir annexe 5

Dosages d'ammonium LCK 304 (0.015-2.000)

Un test basé sur la méthode salicylate /hypochlorite une technique utilisé pour déterminer la concentration d'ammoniac réagit avec le salicylate et l'hypochlorite en présence de nitro prussiate de sodium pour former un composé bleu d'indophénol. voir annexe 5.

Chapitre II : Matériels et Méthodes

Dosage du sulfate LCK 153 (40-150)

Un test basé sur la méthode turbidimétrique qui mesure la turbidité pour déterminer la concentration de certaine substance en suspension. Les ions sulfates (so_4^{2-}) réagissent avec le chlorure de baryum ($Ba\ cl_2$) pour former le sulfate de baryum ($BaSo_4$).voir annexe 5

Dosage de cyanure LCK 315 (0.010-0.600)

Le cyanure réagit en milieu faiblement acide avec les réactifs spécifique pour former un composé coloré bleu l'intensité de cette coloration proportionnelle à la concentration en cyanure mesuré photo -métriquement.voir annexe 5

Dosages du carbone organique total (COT) LCK 385 (3.00-30.00)

Le COT est la teneur en Carbone lié à la MO c'est la somme de MO dissoute et en suspension, son dosage aide a déterminer le processus de minéralisation lors des réactions de dégradation oxydative la valeur du COT détermine les composé difficilement oxydable chimiquement et non biodégradable, se qui est important pour évaluer la pollution.

Dans le kit LCK le carbone organique est oxydé par oxydant fort (persulfate) à 120° ,le CO_2 libéré traverse une membrane acidifié un indicateur de pH dans une chambre adjacente ,le changement de couleur est mesuré photométriquement .voir annexe5

2.5.5.1.7 Demande chimique en oxygène (DCO) LCK 514

Mesure la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder la MO à l'aide de dichromate de potassium en milieu acide ,le dichromate est réduit pendant l'oxydation ,La variation de concentration est mesurée par photométrie.

2.6. Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier

La spectroscopie Infrarouge fournit des renseignements sur la nature des groupements d'atomes et sur leur environnement chimique. Cette technique nous a informer sur les fonctions chimiques existants dans la nanoargile avant et après modification cationique. Voir annexe 6.

2.6.1. Analyse chromatographique GC/FID

Les méthodes chromatographiques sont des méthodes de séparation en phase liquide et gazeuse, non destructrices. Elle peut être utilisée à des fins analytiques. La chromatographie

Chapitre II : Matériels et Méthodes

en phase gazeuse couplée au détecteur à ionisation de flamme (GC/FID) joue un rôle central dans l'évaluation de la contamination des sols par les hydrocarbures et dans le suivi de leur biodégradation. Il permet de détecter les hydrocarbures totaux (TPH) ainsi que leurs différentes fractions (alcanes, aromatiques, hydrocarbures lourds). Chaque pic du chromatogramme correspond à une molécule ou une famille de composés, ce qui donne un profil qualitatif du sol contaminé. Voir annexe 7

Pour passer l'échantillon dans le chromatographe une extraction solide doit être faite par une extraction au Soxhlet

2.6.2 Extraction au Soxhlet

L'extraction au Soxhlet est une technique utilisée pour séparer les composés organiques présents dans une matrice solide ; employant une pièce de verrerie qui permet le passage du solvant sous forme liquide condensé sur une cartouche contenant le solide à extraire. L'éluant s'écoule dans le ballon contenant le solvant qui s'enrichit progressivement en composés solubles. Voir annexe 8



Figure 9 : Montage expérimental de l'extraction par Soxhlet

Chapitre II : Matériels et Méthodes

Une fois l'extraction au Soxhlet est terminée, la séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide d'un évaporateur rotatif.



Figure 10: Équipement de concentration par évaporation sous vide

2.7 Analyse microbiologique

Dans le but d'estimer la densité bactérienne totale dans un sol pollué aux hydrocarbures, identifier les types de bactéries dominantes dans ce sol et évaluer la présence de bactéries dégradant des HC, une analyse microbienne a été réalisée.

2.7.1 Préparation de solution mère

Dans un tube à essais stérile on met 1g de sol à échantillonner avec 9 ml d'eau physiologique stérile puis on met la suspension sous vortex pendant quelques minutes ensuite on passe à d'autres dilutions.

2.7.2 Préparation des suspensions bactériennes

À partir de la suspension mère on va préparer 6 autres suspensions qui vont de 10^{-1} à 10^{-6} :

- Sur un porte-échantillon on va préparer 6 tubes stériles qui contiennent 9 ml de l'eau physiologique
- À partir de la solution mère on va pipeter 1 ml dans le premier tube à essai

Chapitre II : Matériels et Méthodes

Et on met sous le vortex

- De la dilutions 10^{-1} on va pipeter 1 ml dans le deuxième tube et on remet sous vortex
- On refait la même procédure pour tous les autres tubes jusqu'à la dilution 10^{-6}

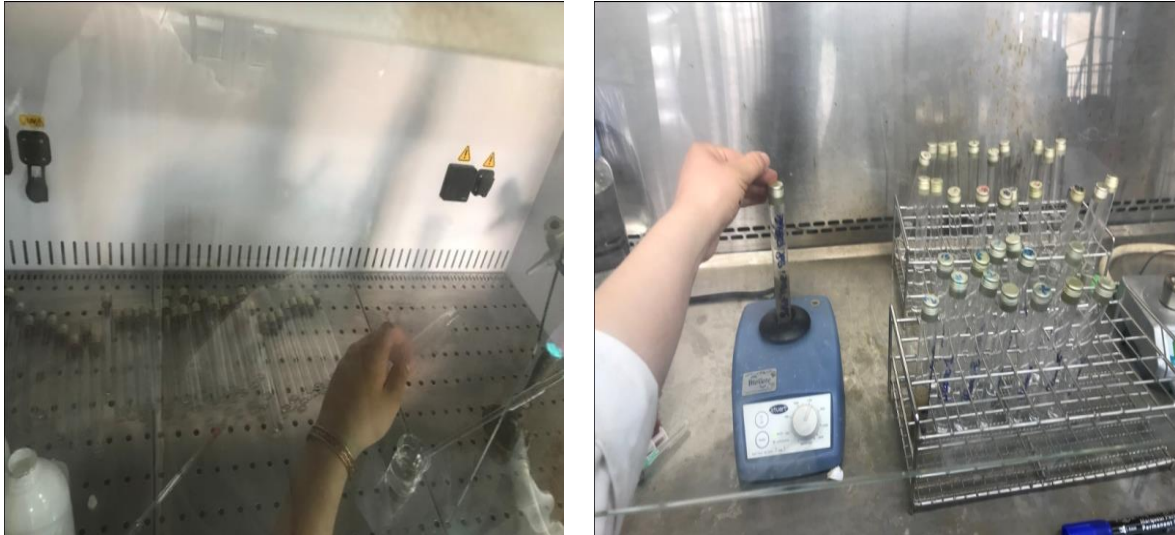


Figure11 : préparation des suspensions bactérienne au laboratoire

2.7.3 Préparation des milieux de cultures

Le milieu utilisé dans ce travail est la (TSA) la gélose au soja trypticase de la marque PRONADIS un mélange prêt à l'emploi, cette préparation est faite selon de mode opératoire :

Dans un erlenmeyer à 1000 ml on mélange 40 g de TSA avec 1 litre d'eau distillée ,Sous un agitateur magnétique chauffant on mélange la solution jusqu'à dissolution complète pour avoir un milieu clair légèrement opalescent ,On remet le milieu dans un autoclave à 121 degré pendant 15 min ,Laisser refroidir le milieu ,Sous une hotte à flux laminaire on verse le milieu dans des boites de pétries stériles 15-20 ml par boite Laisser solidifier a température ambiante et dans un environnement stérile



Figure12 : balance



Figure 13 : préparation de milieu de culture au laboratoire



Figure 14 : coulage des boites pétries au laboratoire

Chapitre II : Matériels et Méthodes

2.7.4 L'ensemencement et incubation

A l'aide d'une micropipettes on dépose un volume de 0.1 ml de la suspension bactérienne ,sur la gélose nutritif ,puis effectuer un mouvement en grille a l'aide d'une pipette pasteur pour étaler uniformément le prélèvement sur le milieu (étalement en surface) , on remet les boîtes couler dans un incubateurs a 37°C pendant 24 heur a fin d' arriver à observer les colonies qui se sent développées .

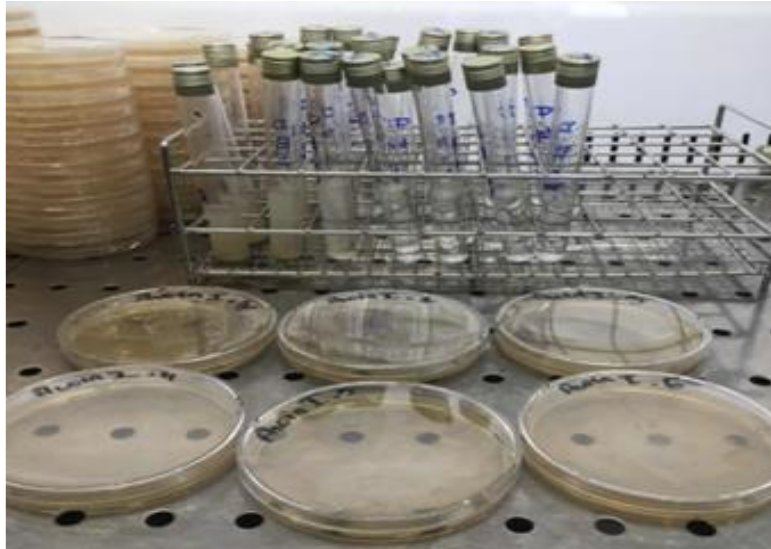


Figure 15 : ensemencement des boîtes pétries



Figure 16 : incubation des boîtes pétries

Chapitre II : Matériels et Méthodes

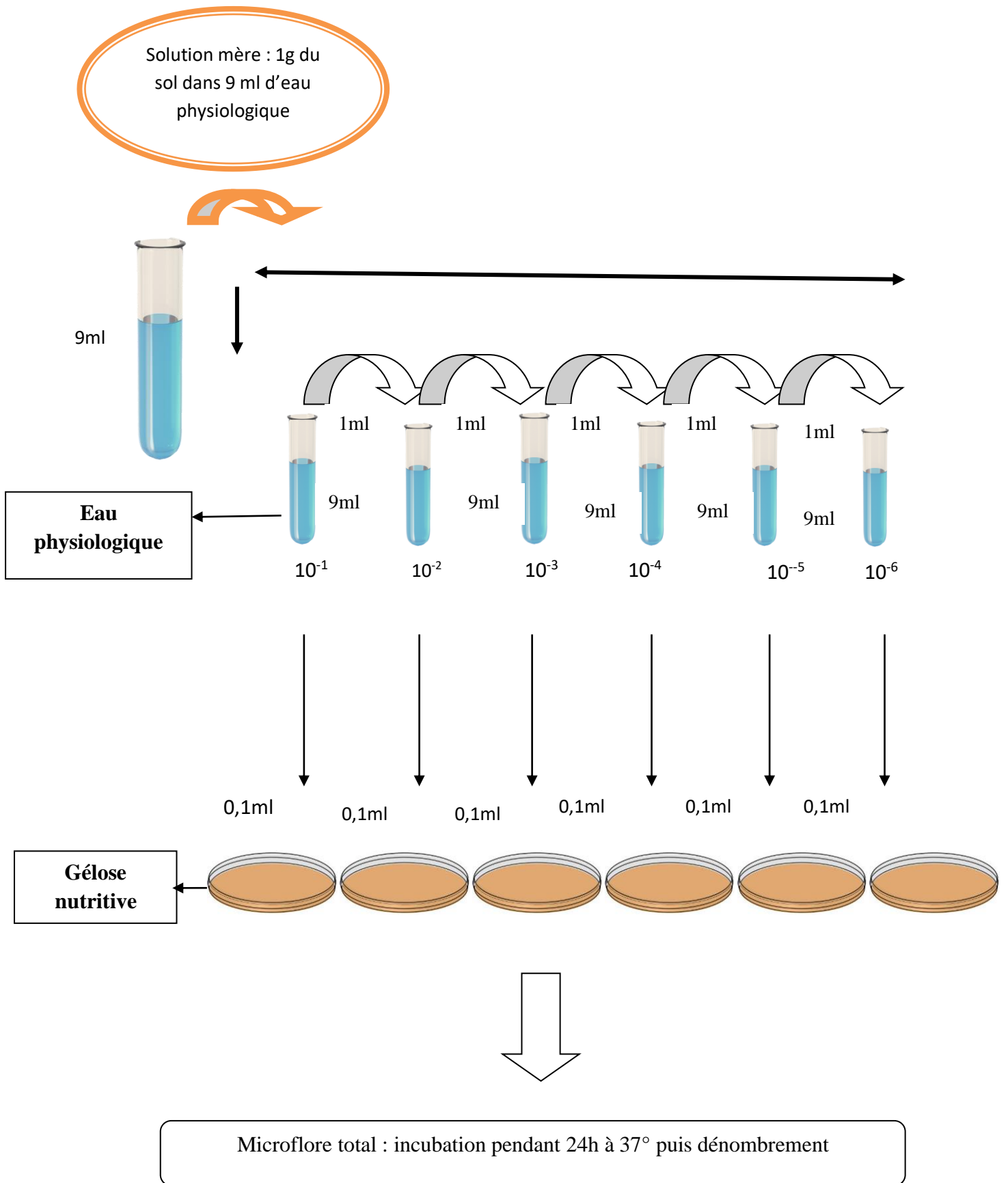


Figure 17 : Schéma récapitulatif des protocoles suivis par l'isolement des bactéries.

Chapitre II : Matériels et Méthodes

2.7.5 Le dénombrement des colonies bactériennes

Après 24 heures d'incubation, la masse bactérienne devienne visible a l'œil nu se qui permet de les dénombré, , les colonies varies selon la taille, couleur et la forme.

2.7.6 Isolement et identification par la galerie API 20^E

2.7.6.1 Les tests biochimiques les galeries API 20 E

Le système API (Appareillage et Procédé d'Identification) constitue une version miniaturisée et standardisée des méthodes biochimiques classiques utilisées pour l'identification bactérienne. Il est composé d'un ensemble de micro tubes contenant des substrats déshydratés. Après inoculation d'une suspension bactérienne, préparée à une densité appropriée et distribuée dans les alvéoles de la galerie, les réactions métaboliques qui se produisent au cours de l'incubation se manifestent par des changements de couleur, soit spontanément, soit après l'ajout de réactifs spécifiques.



Figure 18 : les galeries API 20 E

2.7.6.2 techniques des galeries (API 20 E)

- Sélectionner, à l'aide d'une pipette stérile, une colonie bactérienne bien isolée sur le milieu gélosé.
- Préparer une suspension homogène en transférant la colonie dans 5 ml de solution, dans un tube d'eau distillée stérile.

Chapitre II : Matériels et Méthodes

- Ensemencer les tests, en remplissant à la fois les tubes et les cupules avec la suspension obtenue.
- Ensemencer les autres tests uniquement au niveau des tubes, sans remplir les cupules.
- Recouvrir les cupules avec une couche d'huile de paraffine afin de créer des conditions anaérobies.
- Placer la galerie inoculée dans l'incubateur et l'incuber à 37 °C pendant 24 heures.
- Après l'incubation, la lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture.

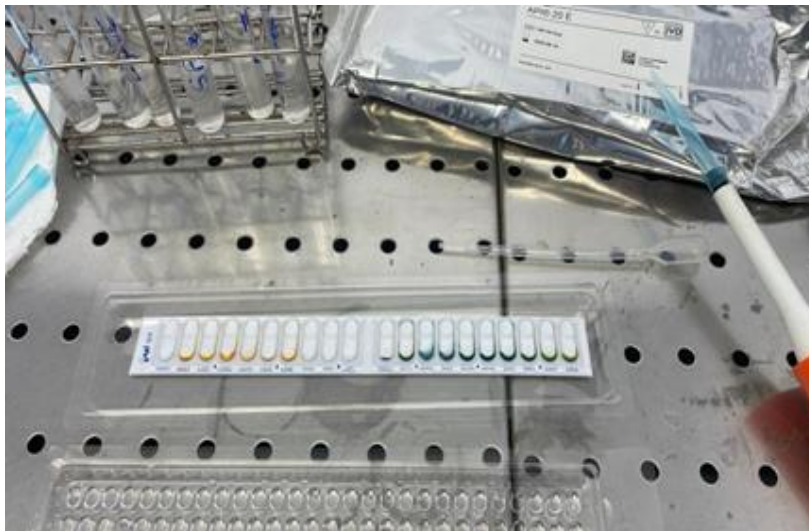


Figure 19 : ensemencement des galleries API 20 E



Figure 20: incubation des galleries API 20 E

2.8 .Analyse statistique

Le traitement des résultats des analyses et des mesures a été réalisé avec le logiciel R. Tous ces résultats ont été soumis à une analyse de la variance pour la c .L'ANOVA est suivie du test de Newman et Keuls pour établir les groupes homogènes lorsque les différences entre les moyennes sont significatives.



Résultats et discussion

1. Taux de germination

La figure 21 montre les résultats du taux de germination des espèces végétales (Avoine, *BrassicaNapus*, Luzerne, Moutarde Blanche).

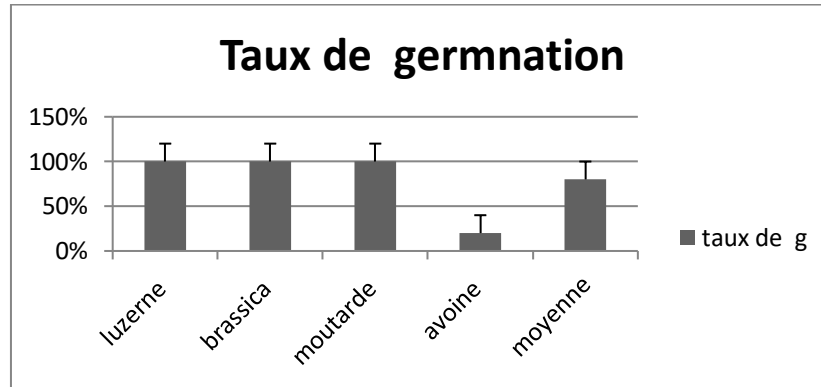


Figure 21 : Taux de germination des espèces végétales

La luzerne, *Brassica napus* et la moutarde blanche montrent une germination complète, tandis que l'avoine présente un faible taux de germination, limité à 20 %.

2. Evaluation des effets des HC sur la croissance des plantes

Dans le but d'évaluer l'effet des HC sur les végétaux nous avons comparé la croissance de quatre espèces ; dans un sol contaminé par le pétrole brut et dans un sol non contaminé.

2.1 Nombre de feuilles et nombre de tiges

- **Moutarde blanche :** La figure 22 montre le nombre de feuilles et le nombre de tiges apparus tout le long de la phytoremédiation dans un sol non pollué et pollué par le pétrole à 5%.

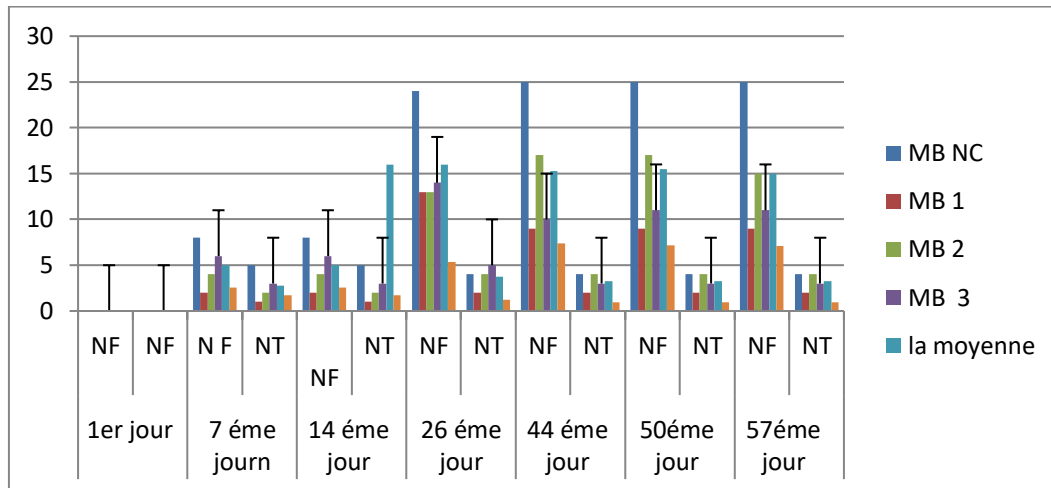


Figure22 : nombres de feuilles et nombre de tiges dans un sol cultivé avec la moutarde blanche

Durant la phytoremédiation, le sol non contaminé présente une nette supériorité en croissance végétative, avec une augmentation régulière du nombre de feuilles et de tiges jusqu'au 26^{ème} jour, suivie d'une stabilisation. Dans le sol contaminé, la croissance reste positive mais limitée, avec des valeurs inférieures et variables selon les répétitions.

- **Brassica napus :** La figure 23 montre le nombre de feuilles et le nombre de tiges apparues tout le long de la phytoremédiation dans un sol non polluée et pollué par le pétrole à 5%.

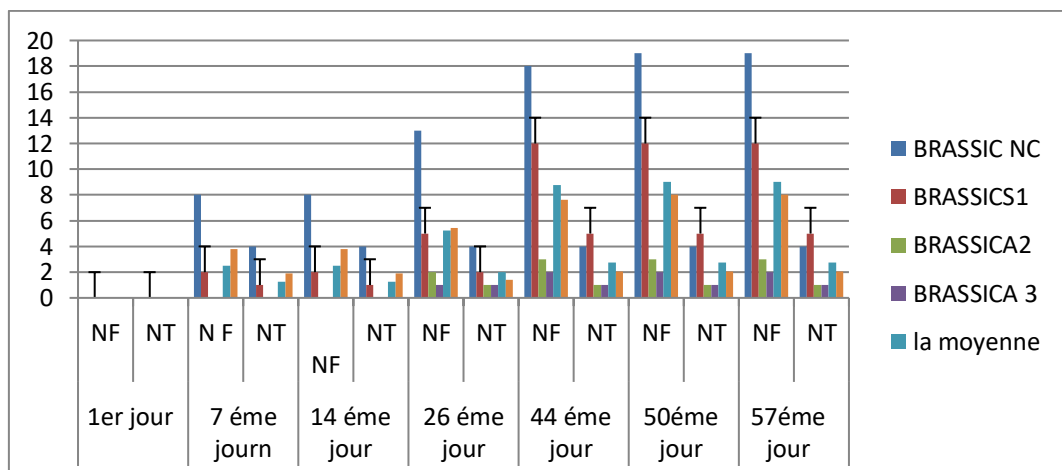


Figure23 : nombre de feuilles et de tige dans un sol cultivé avec la *brassica*

Chez *Brassica napus*, le nombre de feuilles et de tiges augmente régulièrement jusqu'à un maximum entre le 44^{ème} et le 57^{ème} jour, avec des valeurs plus élevées en sol non contaminé qu'en sol pollué. La variabilité entre répétitions reste faible, confirmant la fiabilité des résultats.

- **Luzerne** : La figure 24 montre le nombre de feuilles et le nombre de tiges apparues tout le long de la phytoremédiation dans un sol non polluée et pollué à 5%.

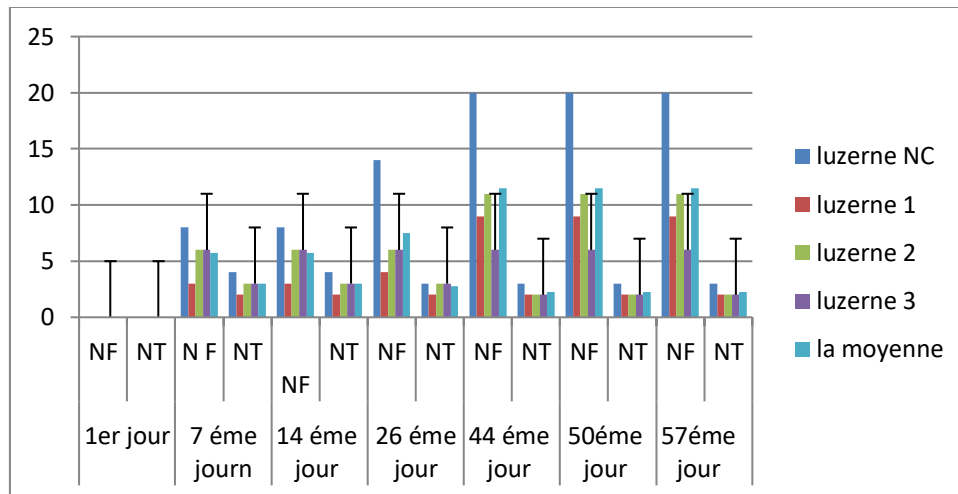


Figure24 : nombre de feuilles et nombre de tige dans un sol cultivé avec *luzerne*

Le graphique montre que la luzerne cultivée dans le sol non pollué affiche une croissance régulière et soutenue, avec une augmentation progressive du nombre de feuilles et de tiges. En revanche, dans le sol pollué, la croissance est globalement limitée, avec des valeurs inférieures par rapport à celles du sol non pollué, la croissance de la luzerne est significativement plus favorable dans le sol non pollué.

- **L'avoine** :La figure25 montre le nombre de feuilles et le nombre de tiges apparues tout le long de la phytoremédiation dans un sol non polluée et pollué par le pétrole à 5%.

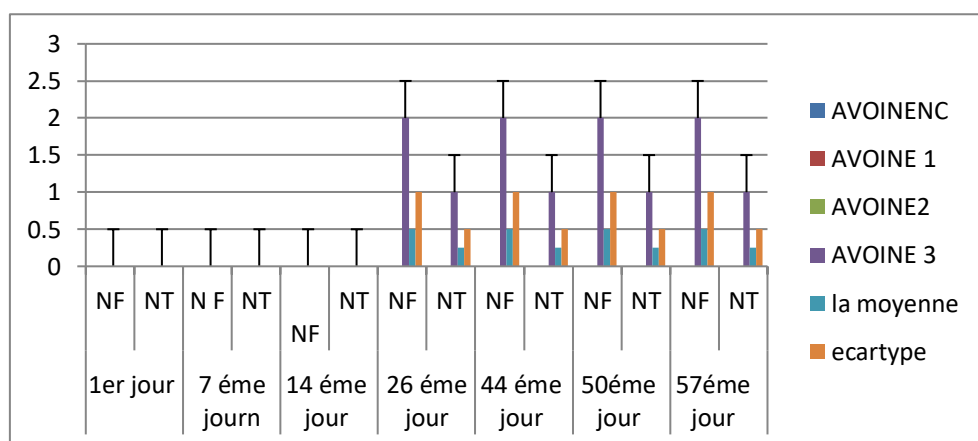


Figure 25 :nombre de feuilles et nombre de tige dans un sol cultivé avec *l'avoine*

Les résultats montrent que, au cours de l'expérience, le nombre de feuilles et le nombre de tiges restent relativement stables. Les valeurs mesurées ne varient pas beaucoup entre les jours, et les différences entre les sols non pollués et pollués sont faibles.

2.2 Longueur aérienne

La figure 26 représente l'évolution hebdomadaire des hauteurs, en centimètre, des plants des différentes espèces végétales luzerne, *brassica napus*, moutarde blanche et l'avoine

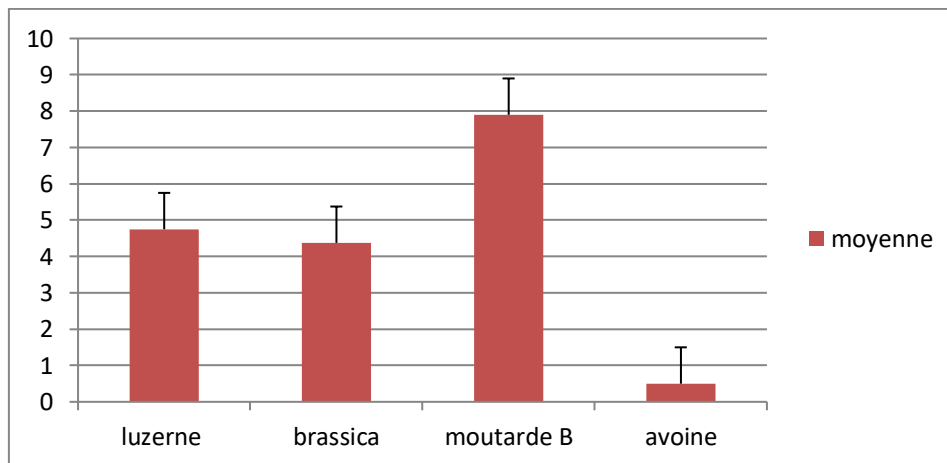


Figure 26: longueur des tiges des quatre espèces végétales.

On remarque que la moutarde blanche a la plus grande hauteur de tiges, suivie de près par la luzerne et *brassica napus*, l'avoine a la plus petite hauteur moyenne. En plus, la moutarde blanche a une croissance assez uniforme, car l'écart-type est faible, ce qui signifie que les tiges sont de taille similaire. Par contre, l'avoine présente une plus grande variation, avec des tiges plus inégales en hauteur.

L'ANOVA et le test de Newman-Keuls montrent une différence significative entre les sols contaminés et non contaminés (p -value = 0.000007) et entre d'un côté les espèces *Brassica napus* et la luzerne et d'un autre côté la *moutarde blanche* (p -value = 0.000092).

2.3 Longueur racinaire

La figure 27 représente l'élongation racinaire des graines de luzerne, *brassica napus*, moutarde blanche et l'avoine dans les différents sols.

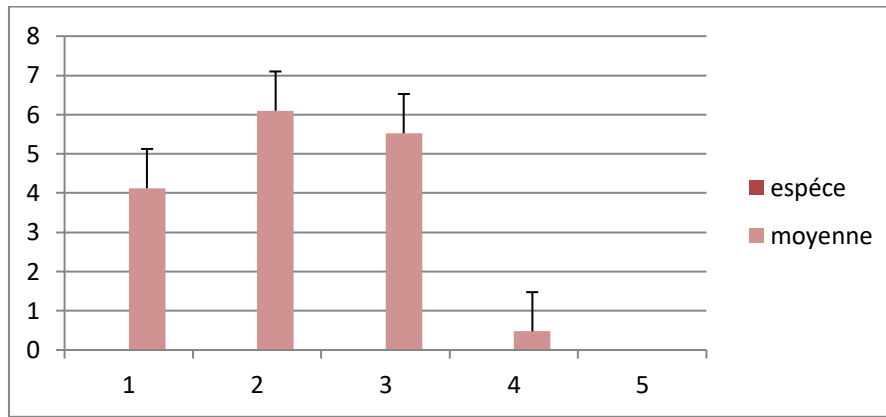


Figure 27 : longueur racinaire des quatre espèces végétales.

Les longueurs moyennes des racines varient selon les espèces végétales étudiées. *Brassica napus* présente la plus grande longueur moyenne de racine, suivie de près par la moutarde blanche. La luzerne montre des racines plus courtes que ces deux espèces, mais tout de même supérieures à celles de l'avoine. Cette dernière se distingue par une longueur moyenne de racine nettement plus faible par rapport aux autres plantes.

L'ANOVA et le test de Newman-Keuls montrent une différence significative entre les sols contaminés et non contaminés (p -value = 0.000393).

2.4 Masse aérienne

La figure 28 représente la masse aérienne de la luzerne, *brassica napus*, moutarde blanche et l'avoine.

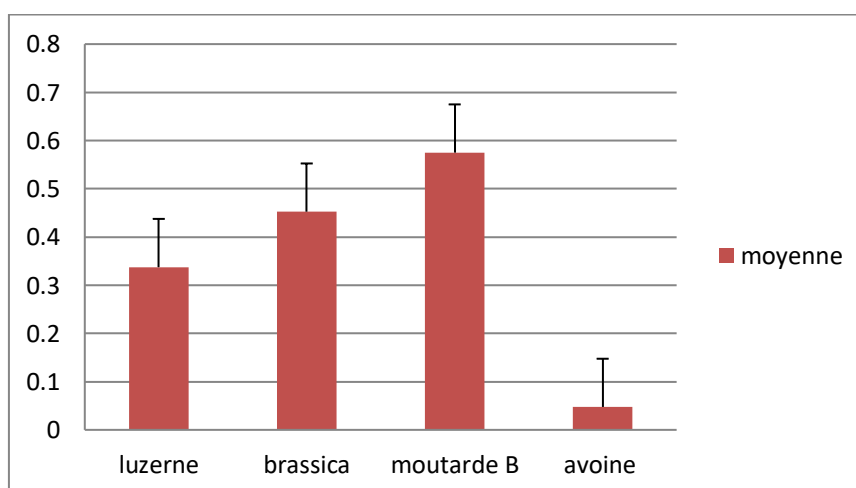


Figure 28 : la masse aérienne des espèces végétales

L'examen des moyennes de la masse aérienne montre une nette supériorité de la moutarde blanche, qui enregistre les valeurs les plus importantes parmi les quatre espèces. *Brassica napus* et la luzerne présentent des productions aériennes intermédiaires, avec des valeurs proches l'une de l'autre. En revanche, l'avoine se distingue par une masse aérienne très réduite, représentant la plus faible performance observée.

L'ANOVA et le test de Newman-Keuls montrent une différence significative entre les sols contaminés et non contaminés (p -value = 0.000059) et entre d'un côté les espèces *Brassica napus* et la luzerne et d'un autre côté la moutarde blanche (p -value = 0.044887).

2.5 Masse racinaire

La figure29 représente la masse racinaire de la luzerne, *brassica napus*, moutarde blanche et l'avoine.

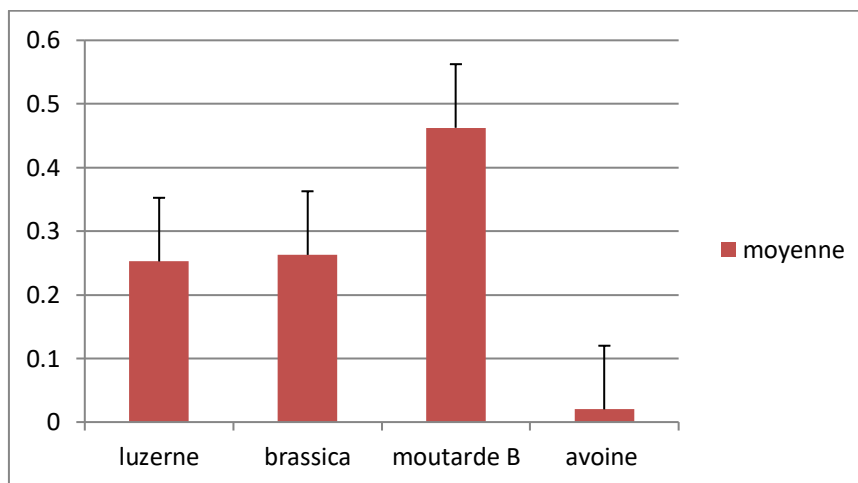


Figure29 : la masse racinaire des espèces végétales

Les résultats indiquent que la moutarde blanche enregistre la masse racinaire la plus élevée parmi les espèces étudiées, se distinguant nettement des autres. La luzerne et *Brassica napus* présentent des valeurs moyennes proches, toutes deux supérieures à celles de l'avoine, mais inférieures à celles de la moutarde blanche. L'avoine, quant à elle, affiche la masse racinaire la plus faible.

L'ANOVA et le test de Newman-Keuls montrent une différence significative entre les sols contaminés et non contaminés (p -value = 0.000070) et entre d'un côté les espèces *Brassica napus* et la luzerne et d'un autre côté la moutarde blanche (p -value = 0.0.003602).

3 analyses physicochimiques

3.1 La granulométrie du sol

L'analyse granulométrique a mis en évidence la présence de deux populations de grains, la première varie entre 0,131 μ m et 0,877 μ m tandis que la deuxième varie entre 1,00 μ m et 300.581 μ m, avec une taille médiane de 8.741 μ m (Fig.30).

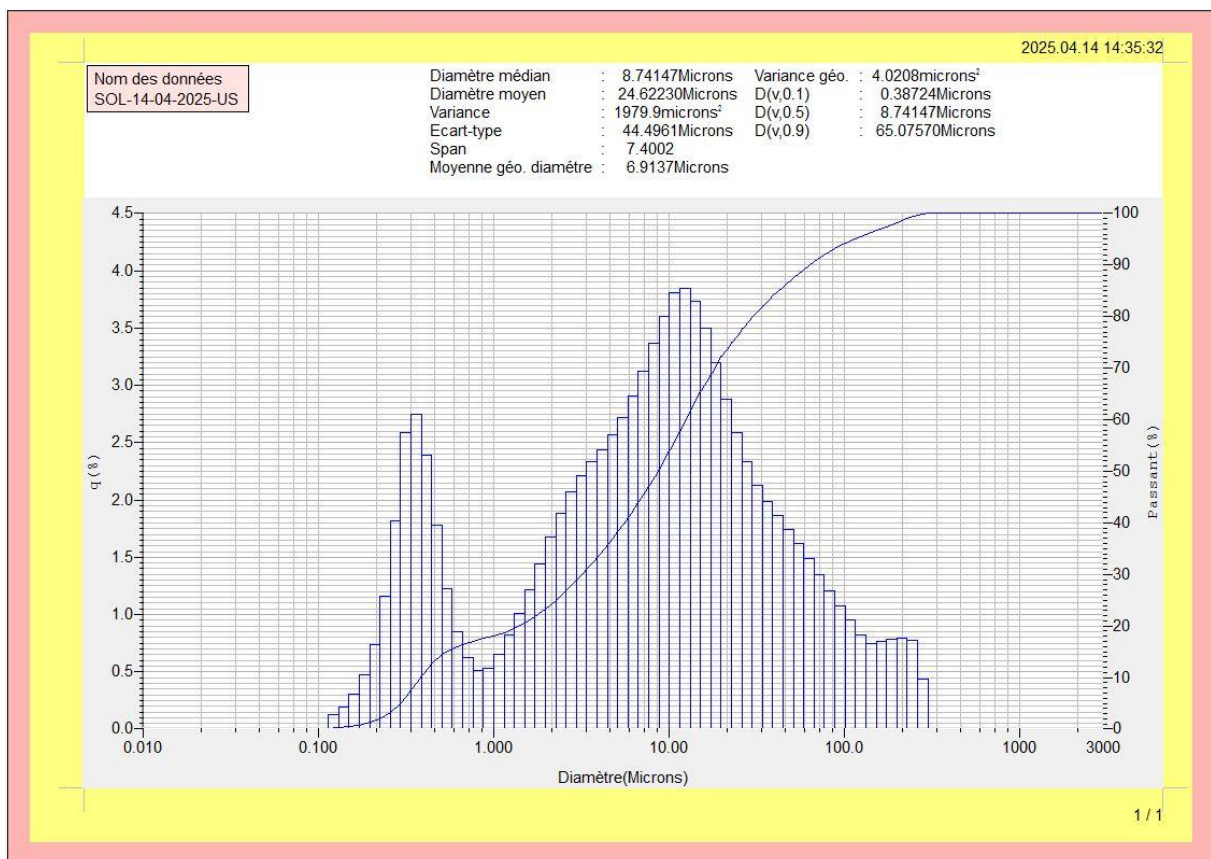


Figure 30: Histogramme de la distribution des différentes phases granulométriques du SOL

L'analyse granulométrique révèle une distribution hétérogène des particules du sol, avec une prédominance de tailles comprises entre quelques microns et plusieurs dizaines de microns. Le diamètre moyen est estimé à 24,62 μ m, tandis que le diamètre médian s'élève à 8,74 μ m, indiquant que la moitié des particules présente une taille inférieure à cette valeur.

3.2 Analyse par diffractométrie des rayons X (DRX)

La figure 31 montre les résultats de l'analyse par diffractométrie des rayons X du sol contaminé.

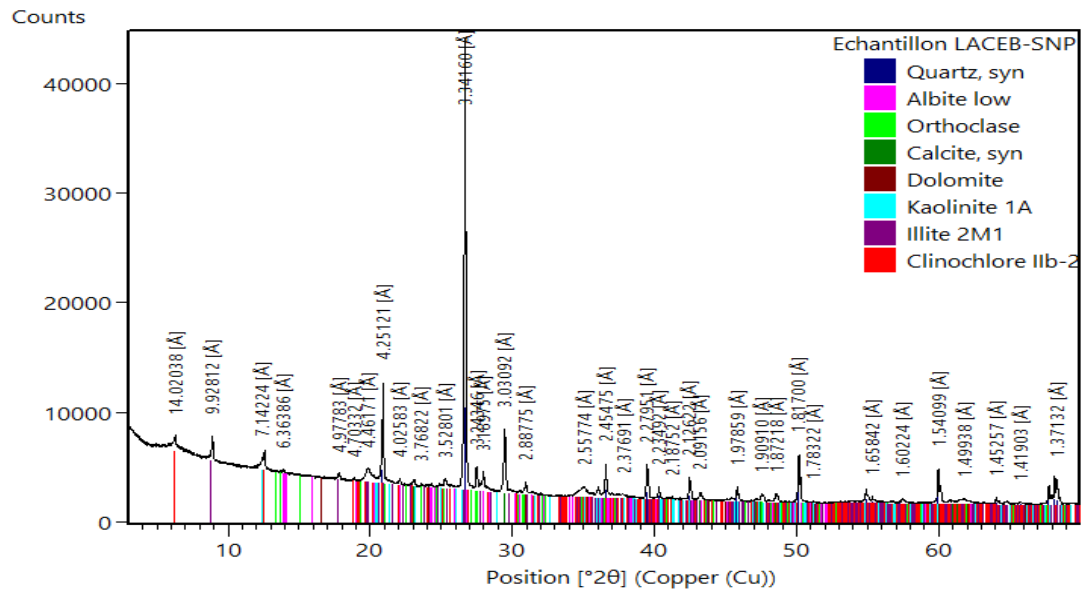


Figure31 : Diffractogramme du sol contaminé

Le diffractogramme met en évidence la présence de plusieurs phases minérales caractéristiques du sol. Le signal montre des pics d'intensité marqués, correspondant aux plans cristallins des différents constituants identifiés.

Les principaux minéraux détectés sont :

- **Quartz (SiO₂)** : représenté par des pics intenses, traduisant une forte abondance de cette phase minérale, généralement dominante dans les sols.
- **Feldspaths (Albite low et Orthose)** : leurs pics caractéristiques indiquent la présence de ces aluminosilicates, témoignant d'une contribution significative de minéraux primaires.
- **Carbonates (Calcite et Dolomite)** : des signaux distincts confirment leur présence, soulignant l'apport de phases carbonatées dans la composition du sol.
- **Argiles (Kaolinite 1A, Illite 2M1, Clinocllore Ilb-2)**: leurs pics spécifiques révèlent la présence de minéraux argileux, contribuant à la fraction fine du sol et jouant un rôle important dans la rétention d'eau et la fixation des polluants.

3.3. Mesure du potentiel d'hydrogène pH

La figure 32 montre les résultats de l'analyse du potentiel d'hydrogène.

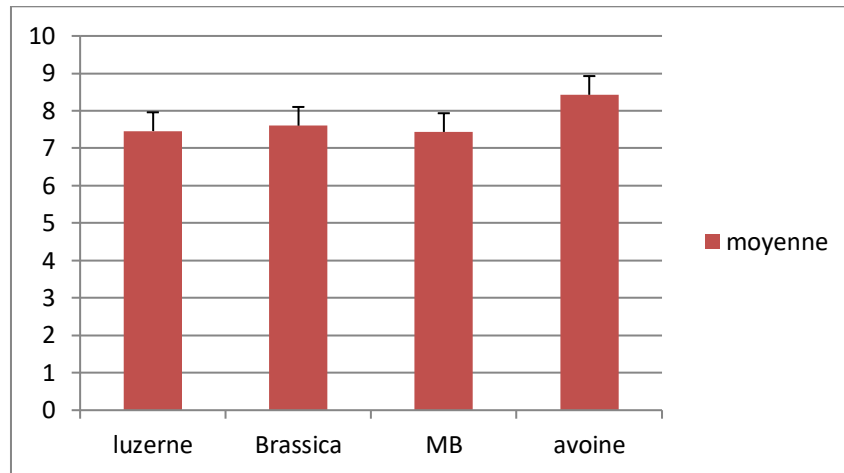


Figure 32 : les différents pH des sols cultivés

Chez la luzerne, les valeurs se situent entre 7,00 et 8,37 avec une moyenne de 7,46. Le sol associé à cette espèce présente ainsi un pH voisin de la neutralité, avec une variabilité modérée. *Brassica napus* enregistre des valeurs comprises entre 6,50 et 8,20, pour une moyenne de 7,60. Le sol tend vers une réaction neutre à basique, mais avec une dispersion un peu plus marquée par rapport à la luzerne. La moutarde blanche affiche une moyenne de 7,43, avec des valeurs allant de 6,80 à 8,02. Cette espèce se rapproche du profil observé avec la luzerne, mais avec une variabilité légèrement plus faible, traduisant une certaine homogénéité dans les mesures. Enfin, l'avoine se distingue par un pH plus élevé. Le sol associé à cette espèce se caractérise par une réaction plus alcaline, accompagnée d'une variabilité relativement réduite.

3.4 Mesure de conductivité électrique

La figure 33 montre les résultats de mesure de conductivité électrique des différents sols cultivés

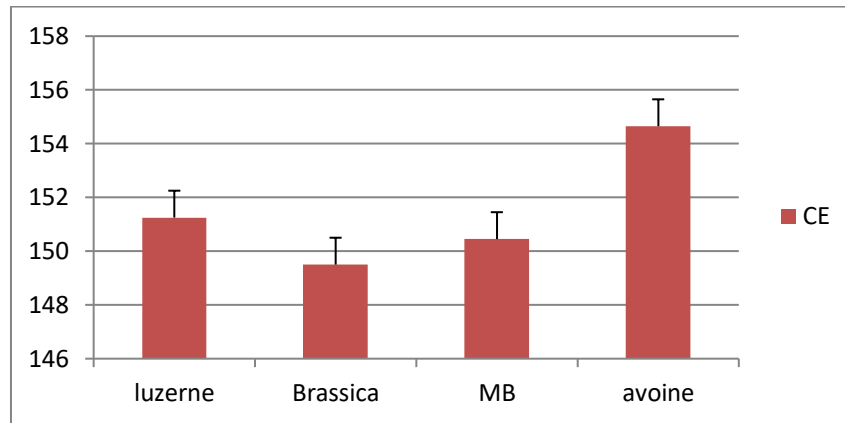


Figure 33 : Conductivité du sol non contaminé et du sol contaminé cultivé par les différentes espèces

L'évaluation de la conductivité électrique du sol en présence des différentes espèces montre des valeurs globalement proches, traduisant une faible variabilité générale entre les conditions expérimentales.

3.5 Indicateur de pollution

- *Luzerne*

La figure34 montre les résultats d'indicateurs de pollution dans un sol pollué et non pollué cultivé avec de la luzerne

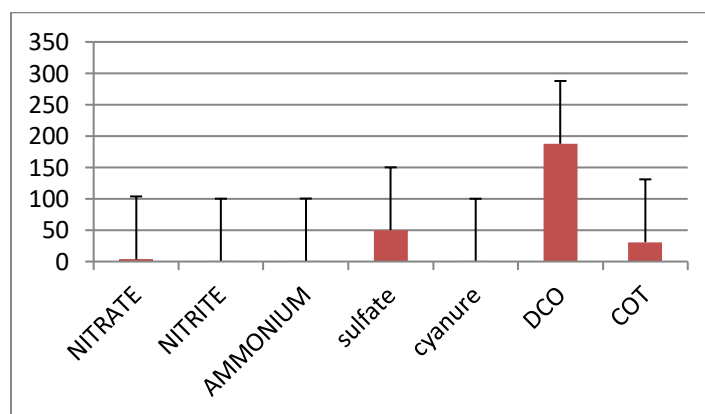


Figure 34: résultats d'indicateur de pollution dans un sol cultivé avec la luzerne

Dans le sol cultivé avec la luzerne, les formes d'azote comme les nitrates, les nitrites et l'ammonium sont présents en petites quantités, ce qui montre une faible disponibilité de cet élément. En revanche, les sulfates sont bien représentés, indiquant une accumulation de composés soufrés. Les cyanures restent quasiment absents et n'ont pas d'importance notable. Par contre, la matière organique est abondante, comme le montrent la forte demande en oxygène et le carbone organique total élevés. Ainsi, la luzerne pousse dans un sol pauvre en azote minéral mais riche en matière organique et en sulfates.

- *Brassica napus*

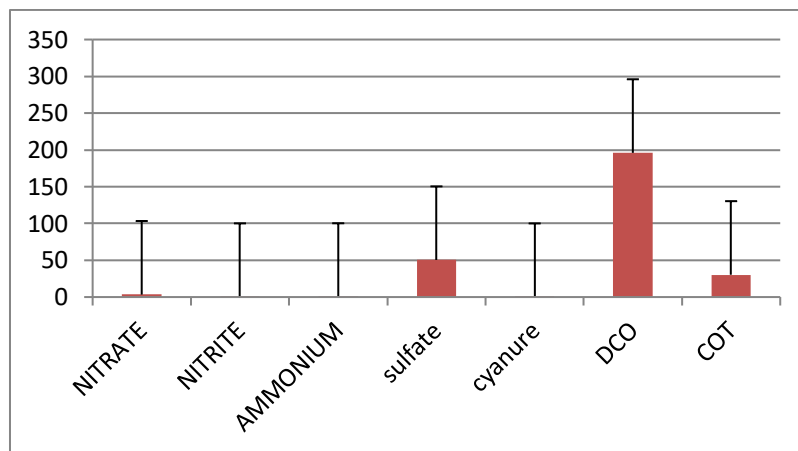


Figure35 : résultats d'indicateurs de pollution d'un sol cultivé avec *brassica napus*

Le sol associé au *Brassica napus* se caractérise par de faibles concentrations en nitrates, nitrites et ammonium. Les sulfates sont présents en quantité notable. Les cyanures apparaissent à des niveaux très faibles. La demande chimique en oxygène est élevée et le carbone organique total présente une valeur importante.

- **Moutarde blanche**

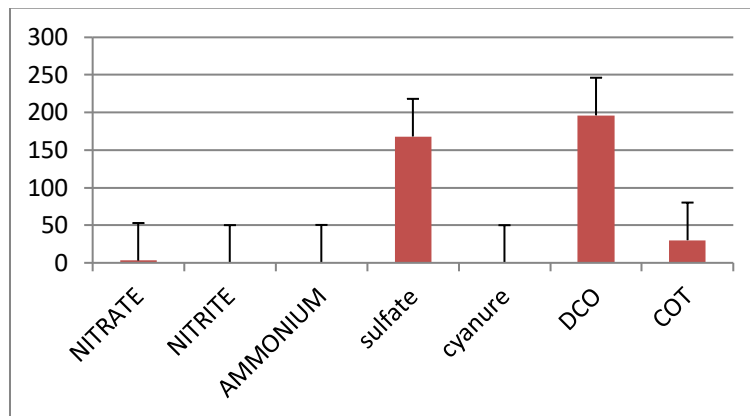


Figure 36: résultats d'indicateurs de pollution d'un sol cultivé avec la moutarde blanche

Le sol cultivé avec la moutarde blanche présente de faibles concentrations en nitrates, nitrites et ammonium. Les sulfates apparaissent en quantité très importante par rapport aux autres paramètres. Les cyanures sont détectés à de très faibles niveaux. La demande chimique en oxygène est élevée, tandis que le carbone organique total garde une valeur notable.

- **L'avoine**

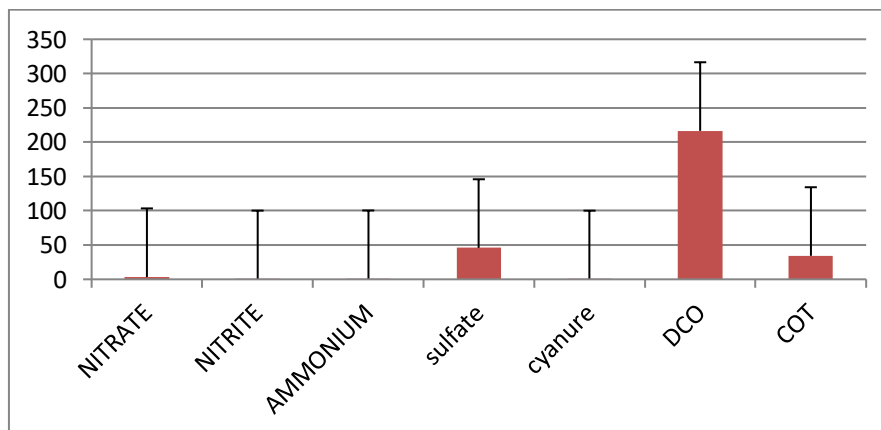


Figure 37 : résultats d'indicateurs de pollution d'un sol cultivé avec l'avoine

Dans le sol ensemencé par l'avoine, les teneurs en nitrates, nitrites et ammonium restent globalement faibles, traduisant une faible présence de formes azotées disponibles. Les sulfates se situent à des niveaux intermédiaires, tandis que les cyanures demeurent très réduits. La demande chimique en oxygène se distingue par des valeurs élevées, accompagnée d'un taux de carbone organique total appréciable. Toutefois, l'avoine se singularise par le fait qu'elle n'a pu réussir qu'une seule répétition dans le sol pollué.

3.6 Analyse par spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

➤ Le sol non contaminé non cultivé

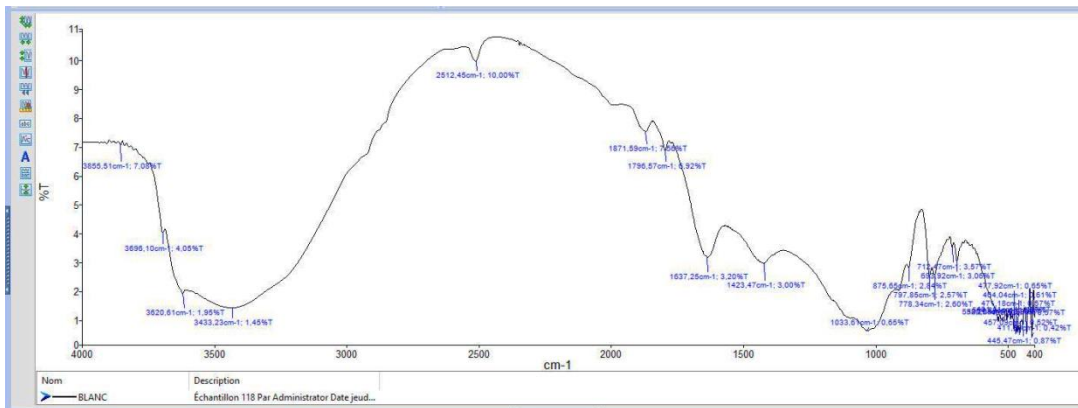


Figure 38: spectre FTIR de sol non contaminé non cultivé

Le sol présente un profil stable, sans perturbations majeures liées à une pollution ou à une activité biologique intense. Les paramètres chimiques montrent des teneurs équilibrées en nitrates, nitrites, ammonium et sulfates, reflétant un état naturel. La matière organique et la demande chimique en oxygène sont modérées, ce qui indique une faible charge organique et une bonne stabilité. On distingue notamment de larges bandes dans la région des groupements hydroxyles (O–H), traduisant la présence d’eau et de minéraux argileux. Des signaux sont également observés dans les régions correspondant aux groupements carbonyles (C=O) et silicates (Si–O), typiques de la matrice minérale. L’absence de pics inhabituels ou intenses suggère qu’il n’y a pas de contaminants organiques particuliers.

➤ Sol contaminé et cultivé par luzerne

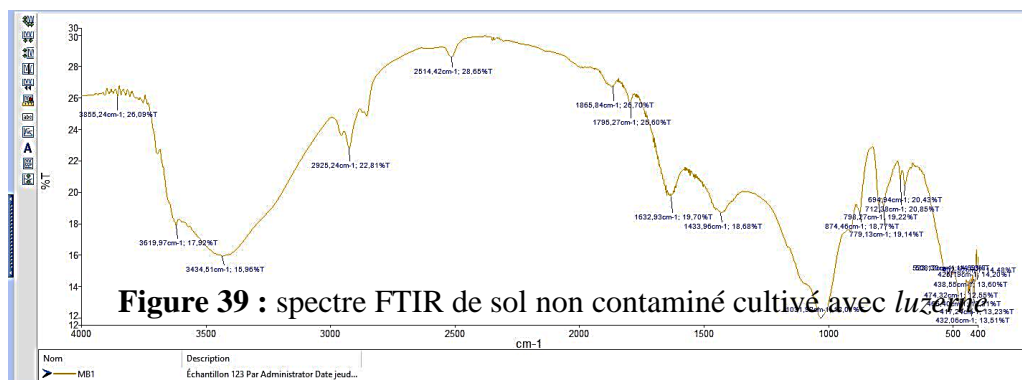


Figure 39 : spectre FTIR de sol non contaminé cultivé avec luzerne

L

e spectre infrarouge et les paramètres chimiques confirment la présence d'un apport organique d'origine pétrolière. On note des bandes C–H importantes dans la zone $\sim 2950\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ (tensions des liaisons C–H) et des signatures d'empreinte (bandements et déformations C–H vers $1450\text{--}1375\text{ cm}^{-1}$), caractéristiques d'hydrocarbures aliphatiques. La présence de pics dans la zone du carbonyle (vers $1700\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$) et des variations dans la région $1500\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ renforcent l'idée d'une présence de composés organiques complexes (y compris des produits partiellement oxydés). Les valeurs élevées de DCO et de carbone organique total observées chimiquement corroborent l'apport important de matière organique persistante cohérent avec une pollution par hydrocarbures.

➤ Sol contaminé et cultivé par la moutarde blanche

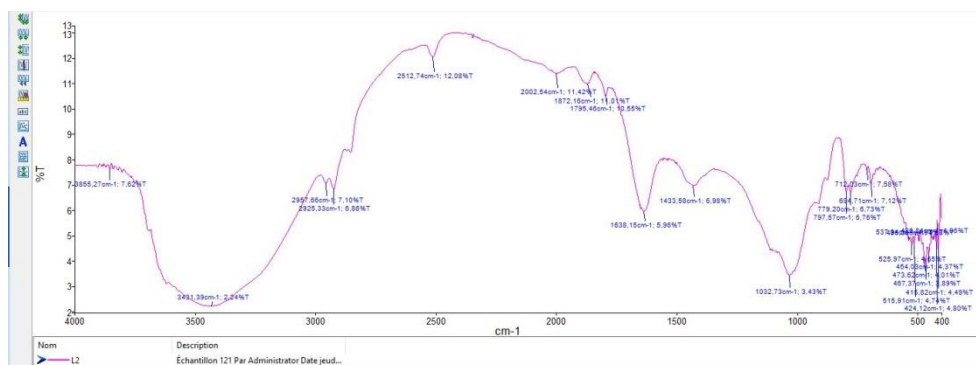


Figure 40 : spectre FTIR de sol non contaminé cultivé avec MB

D'après l'analyse du spectre infrarouge du sol contaminé par les hydrocarbures et cultivé avec de la moutarde blanche, plusieurs bandes caractéristiques confirment la présence de composés pétroliers. En effet, la bande située à 2925 cm^{-1} correspond aux vibrations C–H aliphatiques, typiques des hydrocarbures. La présence de pics intenses entre 1795 et 1865 cm^{-1} traduit les vibrations carbonyles (C=O), témoignant de produits d'oxydation issus de la dégradation partielle des hydrocarbures. Le signal à 1633 cm^{-1} indique la présence de doubles liaisons C=C aromatiques, renforcé par les bandes observées dans la région $874\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ qui sont caractéristiques des cycles aromatiques. Enfin, les larges bandes vers 3434 cm^{-1} et 3619 cm^{-1} correspondent aux groupes hydroxyles (O–H), liés à l'humidité du sol et à la matière organique. Ces résultats confirment la contamination du sol par les hydrocarbures, tout en révélant la présence de produits de transformation oxydés.

➤ Sol contaminé et cultivé par *Brassica napus*

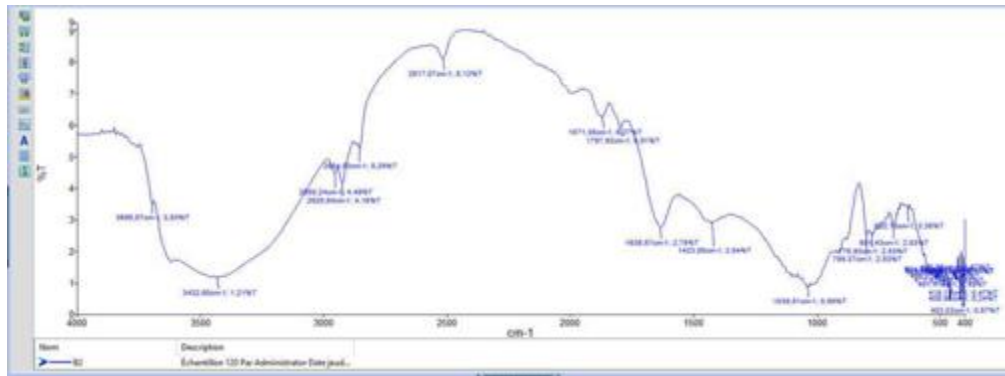


Figure 41 : spectre FTIR de sol non contaminé cultivé avec BN

L'analyse infrarouge du sol contaminé cultivé avec *Brassica napus* met en évidence plusieurs bandes caractéristiques traduisant la présence d'hydrocarbures. La large absorption autour de 3432 cm^{-1} est liée aux groupements hydroxyles et à l'eau retenue dans le sol. Les bandes situées près de 2955 et 2925 cm^{-1} correspondent aux liaisons C–H des chaînes aliphatiques, témoignant directement de la persistance d'hydrocarbures. La zone comprise entre 1797 et 1871 cm^{-1} révèle la présence de groupements carbonyles, probablement issus de processus d'oxydation. Le signal vers 1636 cm^{-1} indique des liaisons C=C et la présence d'eau tandis que celui de 1423 cm^{-1} traduit des vibrations CH_2 et CH_3 typiques des composés organiques hydrocarbonés. La bande observée à 1039 cm^{-1} est associée aux groupements C–O, marqueurs de transformations oxydatives. Enfin, les signaux enregistrés entre 800 et 400 cm^{-1} reflètent à la fois la signature des hydrocarbures et des minéraux du sol. Globalement, ces résultats montrent que le sol reste fortement contaminé, mais la présence de bandes liées à des groupements oxydés suggère une dégradation partielle des hydrocarbures, probablement stimulée par la culture de *Brassica napus*.

➤ Sol contaminé et cultivé par l'avoine

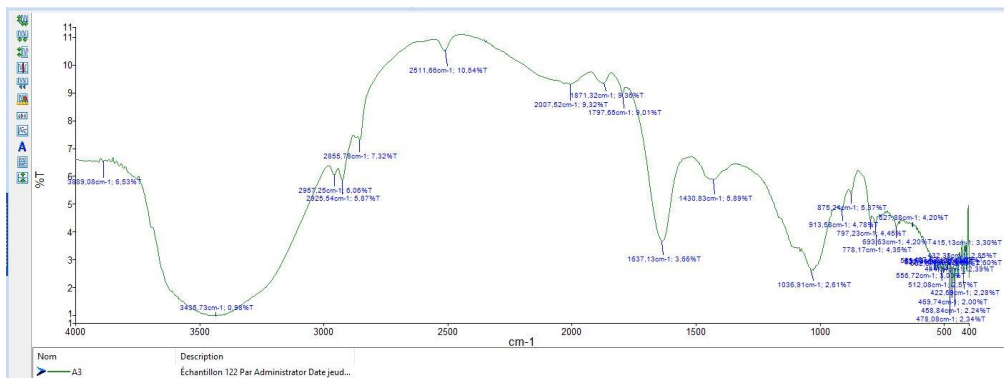


Figure 42 : spectre FTIR de sol non contaminé cultivé avec l'avoine

Le spectre infrarouge de l'avoine montre que le sol est marqué par la présence d'hydrocarbures. On remarque des bandes autour de 2925 et 2855 cm⁻¹ qui indiquent les liaisons C–H, typiques des hydrocarbures aliphatiques. Le pic vers 1637 cm⁻¹ traduit la présence de composés organiques insaturés ou aromatiques. On observe aussi un signal large à 3435 cm⁻¹ lié aux groupements O–H, signe d'humidité ou de matière organique. D'autres bandes entre 1036 et 875 cm⁻¹ correspondent aux minéraux du sol (Si–O et C–O). Enfin, les nombreuses bandes entre 700 et 500 cm⁻¹ confirment la présence d'hydrocarbures aromatiques et de liaisons minérales. Le spectre confirme que le sol de l'avoine est contaminé par les hydrocarbures tout en conservant des signatures de matière organique et de minéraux.

3.7. Analyse chromatographique GC/FID

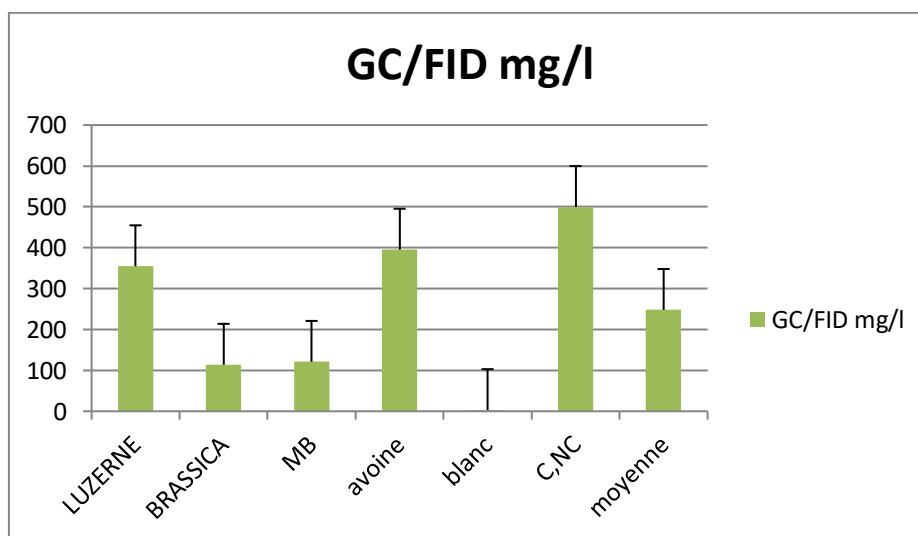


Figure 43 : résultats d'analyse GC/FID des sols

L'analyse chromatographique par FID met en évidence des différences entre les échantillons étudiés. Le sol blanc, non contaminé et non cultivé, présente un signal très faible en hydrocarbures. À l'opposé, le sol contaminé non cultivé enregistre la concentration la plus élevée, traduisant l'absence de mécanisme de réduction. Parmi les sols cultivés, celui de la luzerne conserve une charge hydrocarbonée importante, indiquant une efficacité limitée de cette espèce. L'avoine montre une réduction plus marquée mais encore incomplète, traduisant une action intermédiaire. En revanche, *Brassica napus* et la moutarde blanche se distinguent par une forte diminution des hydrocarbures, démontrant une meilleure capacité de ces plantes à favoriser la dégradation des polluants.

4. Analyse microbiologique

4.1 Dénombrement microbien

- *Luzerne*

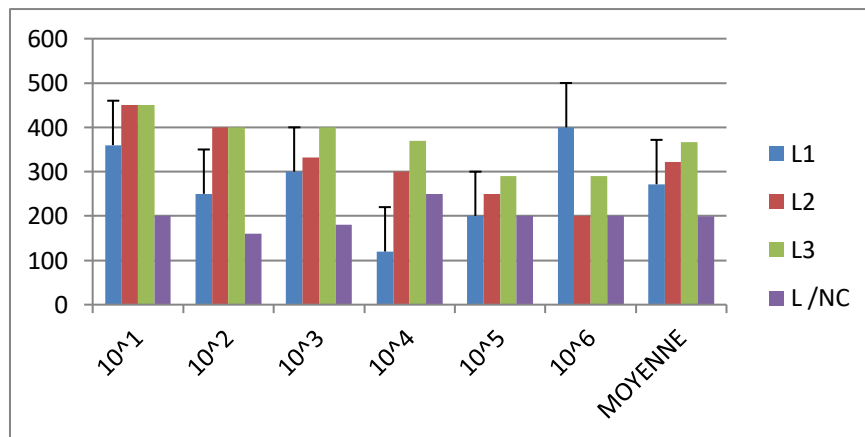


Figure 44: résultats du dénombrement de luzerne

Le dénombrement bactérien de la luzerne diminue progressivement avec les dilutions (10^{-1} à 10^{-6}). L2 présente systématiquement les valeurs les plus élevées, suivie de L3 et L/NC, tandis que L1 reste inférieur. Aux faibles dilutions (10^{-1} et 10^{-2}), les comptages dépassent 400 UFC pour L2, puis chutent progressivement jusqu'à moins de 100 UFC à 10^{-6} . La moyenne confirme la dominance de L2 et la faiblesse de L1, avec un écart-type modéré traduisant une bonne homogénéité entre répétitions.

• *Brassica napus*

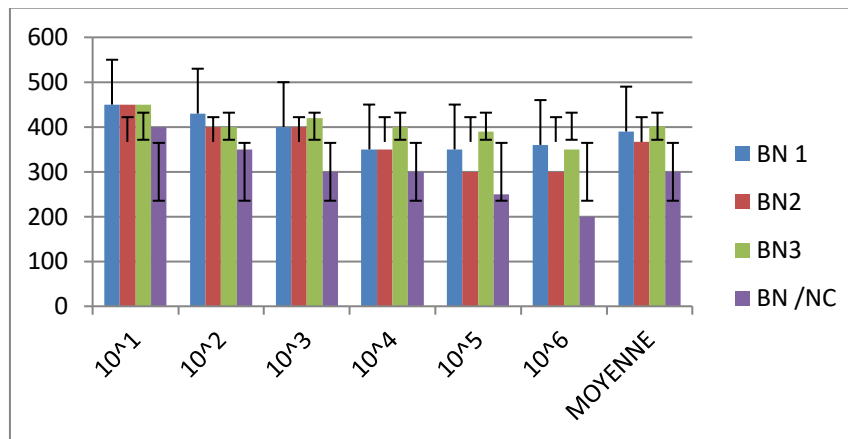


Figure 45 : résultat du dénombrement de Brassica

Le dénombrement bactérien de *Brassica napus* diminue progressivement avec l'augmentation des dilutions (10^{-1} à 10^{-6}). Les répétitions (BN1, BN2, BN3) restent proches les unes des autres, ce qui traduit une bonne homogénéité. Le sol non contaminé (BN/NC) présente des valeurs globalement plus faibles que les sols contaminés, indiquant que la contamination favorise une densité microbienne plus élevée. La moyenne confirme cette tendance, tandis que l'écart-type reste faible, montrant une variabilité réduite entre répétitions.

• *Moutarde blanche*

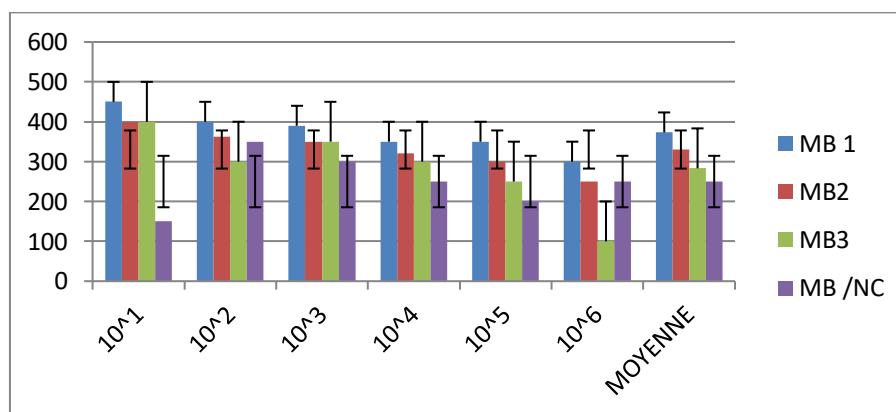


Figure 46 : résultat du dénombrement de moutarde blanche

Le dénombrement bactérien de la moutarde blanche diminue régulièrement avec l'augmentation des dilutions (10^{-1} à 10^{-6}). Les répétitions (MB1, MB2, MB3) montrent des valeurs proches, traduisant une bonne homogénéité. Le sol non contaminé (MB/NC) présente des densités bactériennes plus faibles par rapport aux sols contaminés.

• *Avoine*

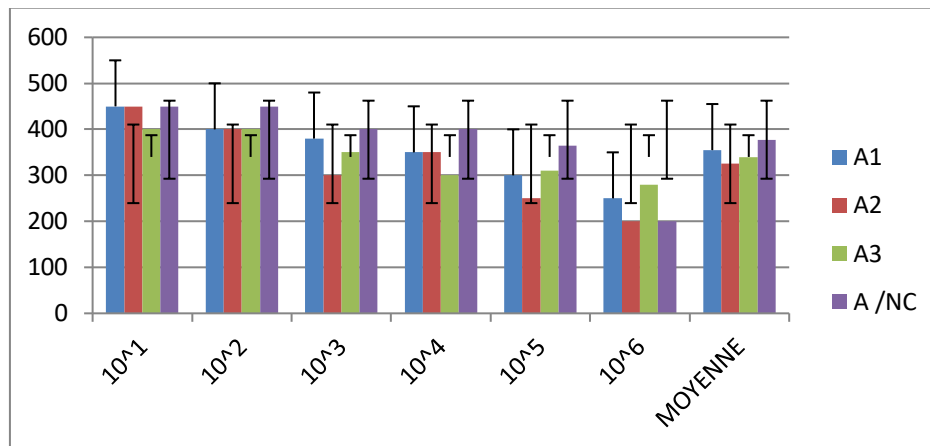


Figure 47 : résultat du dénombrement de l'avoine

Le dénombrement bactérien associé à l'avoine diminue progressivement avec les dilutions successives (10^{-1} à 10^{-6}). Les trois répétitions (A1, A2, A3) montrent une bonne cohérence avec des valeurs proches, traduisant une homogénéité des résultats. Le sol non contaminé (A/NC) présente des charges bactériennes inférieures par rapport aux sols contaminés, indiquant que la contamination stimule davantage le développement microbien.

• **Sol contaminé et non contaminé**

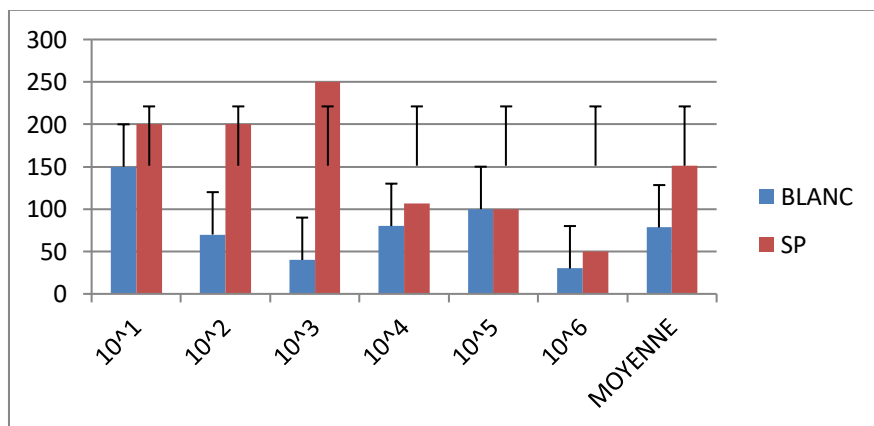


Figure 48 : résultat du dénombrement du sol contaminé et non contaminé

Le dénombrement microbien révèle des différences notables entre le sol témoin non contaminé (BLANC) et le sol pollué non cultivé (SP). Dans les dilutions les plus faibles (10^{-1} à 10^{-3}), le sol contaminé (SP) présente des charges bactériennes plus élevées que le témoin, indiquant une stimulation de la microflore par la pollution. À partir des dilutions 10^{-4} à 10^{-6} , les valeurs se rapprochent entre les deux sols, avec une tendance à la baisse globale.

Lecture des galeries API 20 E

Tableaux 2 : les résultats des galeries API 20 E

	AVOINE	AVOINE,NC	BLANC	SP	BRASSICA	BRASSICA, NC	LUZERNE	LUZERNE,NC	MB	MB,NC
DNP G	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
AD H	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
LDC	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
OD C	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
CIT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H2S	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
URE	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-
TDA	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+
IND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GEL	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
GL U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MA N	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
INO	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
RHA	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
SAC	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
MEL	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
AM Y	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
ARA	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

Les résultats des galeries API 20E montrent que les bactéries varient selon l'état du sol. Dans les sols contaminés par les hydrocarbures, qu'ils soient cultivés par l'avoine, la moutarde blanche, la luzerne ou le colza (Brassica), on retrouve surtout des bactéries du type Enterobacter et Klebsiella. Dans les sols non contaminés, la flore bactérienne est plus simple et moins diversifiée.

Discussion

Nos résultats ont permis de comparer le comportement de quatre espèces végétales (*Brassica napus*, moutarde blanche, luzerne et avoine) dans un sol contaminé par le pétrole brut, en mettant en évidence leur capacité de croissance et leur potentiel de phytoremédiation. L'analyse du taux de germination met en évidence une nette différence de comportement entre les espèces testées. La luzerne (*Medicago sativa*), le colza (*Brassica napus*) et la moutarde blanche (*Sinapis alba*) ont affiché un taux de germination de 100 %, traduisant une homogénéité et une forte vigueur germinative. La luzerne et certaines crucifères disposent d'une capacité de levée rapide grâce à une meilleure mobilisation des réserves énergétiques contenues dans leurs graines Bensaid (2018). De plus, *Brassica napus* conserve un pouvoir germinatif élevé même en conditions de stress modéré, ce qui confirme sa résilience et son intérêt agronomique (Bouguerra, 2019). En revanche, l'avoine (*Avena sativa*) n'a enregistré qu'un taux de germination de 20 %. Cette faible performance pourrait s'expliquer par une sensibilité accrue aux conditions expérimentales, notamment au niveau de l'humidité et de la composition du substrat. Les céréales telles que l'avoine sont particulièrement vulnérables aux contraintes abiotiques, ce qui se traduit par une réduction significative du taux et de la vitesse de germination (Mebarki, 2017).

Cette observation est en accord avec nos résultats, qui suggèrent que l'avoine est moins adaptée que les Fabacées et Brassicacées étudiées dans un contexte de contraintes écologiques. Ces résultats mettent en avant la supériorité des espèces de la famille des Fabacées et des Brassicacées pour des programmes de valorisation des sols et de dépollution, contrairement à l'avoine dont la faible germination constitue un facteur limitant.

L'ensemble des résultats met en évidence des différences notables entre les quatre espèces en termes de croissance végétative et de production de biomasse, aussi bien en sol contaminé qu'en sol témoin. La moutarde blanche présente un développement végétatif marqué, surtout en sol non contaminé, avec une stabilisation après le 26^{em} jour. *Brassica napus* montre une progression régulière jusqu'au 57^{em} jour, traduisant une bonne résilience. La luzerne conserve une croissance plus limitée, mais relativement stable, tandis que l'avoine reste la moins productive. Ces observations confirment que la contamination pétrolière limite la croissance foliaire, effet plus accentué chez les céréales (Hamdi, 2016).

La moutarde blanche se distingue par la plus grande hauteur de tiges, suivie par la luzerne et le colza. L'avoine, en revanche, reste en retrait avec une croissance réduite. Les crucifères possèdent une croissance aérienne soutenue grâce à un système racinaire pivotant

favorisant l'absorption des nutriments, ce qui explique leurs performances supérieures (Bouguerra 2019).

Pour la longueur racinaire, Les résultats montrent que *Brassica napus* et la moutarde blanche développent les racines les plus longues, suivis de la luzerne. L'avoine se caractérise par des racines nettement plus courtes. Cela traduit une meilleure capacité d'exploration du sol chez les crucifères, avantageuse en phytoremédiation des sols contaminés (Aït Yahia, 2015).

Pour la masse aérienne et racinaire, la moutarde blanche enregistre les plus fortes valeurs de biomasse, aussi bien aérienne que racinaire, confirmant sa robustesse face aux contraintes du sol. La luzerne et le colza présentent des valeurs intermédiaires, proches l'une de l'autre, alors que l'avoine reste la moins performante. Ces résultats concordent avec ceux de Benbrahim (2014), qui souligne la capacité de la moutarde blanche à développer une biomasse importante même en conditions défavorables, renforçant son intérêt en phytoremédiation.

L'analyse granulométrique du sol étudié met en évidence une distribution bimodale des particules, avec une première population comprise entre 0,131 μm et 0,877 μm et une seconde population beaucoup plus étendue, allant de 1,00 μm à plus de 300 μm . La médiane observée (8,74 μm) suggère que 50 % des particules possèdent une taille inférieure à cette valeur, tandis que le diamètre moyen (24,62 μm) traduit une influence des particules grossières sur la moyenne arithmétique. Cette hétérogénéité granulométrique traduit la présence conjointe de fractions fines (argiles et limons) et de fractions plus grossières (sables), typique des sols à texture intermédiaire. Benkhelifa (2017) a observé dans un sol une distribution hétérogène similaire, avec une dominance des particules fines influençant la rétention en eau et la disponibilité des nutriments. Djoudi (2016) souligne que la granulométrie influe directement sur la structure et la porosité du sol, la présence de fractions grossières augmentant la macroporosité, tandis que les particules fines améliorent la capacité d'échange cationique.

Le sol analysé présente une texture complexe dominée par les particules fines mais enrichie en éléments grossiers, ce qui confère à ce type de sol une capacité de rétention d'eau moyenne et une perméabilité modérée, des paramètres essentiels pour le développement des végétaux et pour la dynamique des polluants.

L'analyse par diffractométrie des rayons X (DRX) montre une composition minéralogique complexe du sol contaminé, dominée par le quartz, des feldspaths (albite et orthose), des carbonates (calcite et dolomite) et les minéraux argileux (kaolinite, illite et clinochlore). La forte abondance du quartz témoigne de la nature siliceuse dominante du sol.

Le quartz est généralement le constituant le plus fréquent des sols sableux et limoneux, contribuant à la structure granulaire et à la stabilité mécanique du sol (Boulmane, 2014). Les feldspaths (albite et orthose) reflètent la persistance de minéraux primaires peu altérés. Leur présence suggère que le sol étudié pourrait être issu de matériaux parentaux riches en aluminosilicates, confirmant une origine magmatique ou métamorphique. Ces minéraux jouent un rôle essentiel dans l'apport en éléments nutritifs comme le potassium et le sodium lors des processus d'altération (Djamai, 2016). Les carbonates (calcite et dolomite) traduisent un apport pédogénétique ou allochton, souvent associé à des sols calcimagnésiques. Ces phases carbonatées jouent un rôle central dans le pouvoir tampon du sol et dans la neutralisation des polluants organiques (Aouad, 2017).

L'argile (kaolinite, illite et clinochlore) est particulièrement importante car elle conditionne la capacité d'échange cationique (CEC) et la rétention des hydrocarbures dans le sol. Les minéraux argileux, par leur surface spécifique élevée et leur charge électrostatique, fixent les métaux lourds et adsorbent les molécules organiques, réduisant ainsi leur mobilité dans le sol (Boukerma, 2015). En somme, la composition minéralogique obtenue par DRX montre un équilibre entre minéraux primaires (quartz, feldspaths, carbonates) et minéraux secondaires (argiles), traduisant une dynamique pédogénétique active. La présence des carbonates et des argiles favorise la rétention et la stabilisation des contaminants, jouant un rôle déterminant dans la capacité du sol à résister ou à atténuer les effets de la pollution par hydrocarbures.

L'analyse du Ph montre ; dans les sols non pollués, les valeurs restent proches de la neutralité (7,4–7,6), tandis que dans les sols contaminés par les hydrocarbures, on observe une tendance à l'alcalinisation, notamment avec l'avoine (moyenne de 8,37).

Ces résultats indiquent que la contamination par les hydrocarbures modifie l'équilibre chimique du sol et la biodégradation des hydrocarbures entraîne la production de composés basiques (ammoniac, carbonates) qui augmentent le pH (Benslama, 2017). De même, Hammoudi (2020) a montré que la pollution pétrolière peut perturber le système tampon du

sol et favoriser une réaction alcaline, particulièrement dans les sols riches en matière organique.

En ce qui concerne les espèces végétales, la luzerne et la moutarde blanche maintiennent un pH proche de la neutralité, ce qui traduit une certaine capacité à stabiliser les conditions du sol. Les légumineuses, grâce à leur symbiose rhizobienne, contribuent à réguler les variations de pH dans des sols pollués par les hydrocarbures (Meziani, 2018). En revanche, l'avoine accentue la tendance à l'alcalinisation dans le sol contaminé, ce qui peut être lié à son système racinaire favorisant la minéralisation des hydrocarbures et la libération de bases échangeables (Rahmoun, 2019).

La conductivité électrique des sols, qu'ils soient cultivés avec la luzerne, Brassica, la moutarde blanche ou l'avoine, reste relativement stable ($\approx 150 \mu\text{S}/\text{cm}$) avec de faibles écarts-types. Cela indique que la contamination par les hydrocarbures n'a pas fortement influencé la salinité globale du sol. En effet, les hydrocarbures sont des composés organiques peu solubles dans l'eau et n'apportent pas directement d'ions contribuant à la conductivité électrique (Hammoudi, 2020). Néanmoins, leur biodégradation peut générer certains sous-produits ioniques (acides organiques, carbonates, ammonium) susceptibles d'altérer localement la conductivité (Benslama, 2017). L'absence de variations marquées dans cette étude suggère que les espèces végétales testées n'ont pas provoqué de changements significatifs dans la dynamique ionique du sol. Ces résultats rejoignent les travaux de Meziani (2018) qui a montré que dans les sols pollués aux hydrocarbures, la CE reste globalement stable par rapport aux sols témoins, contrairement aux sols salinisés où les variations sont marquées.

Indicateurs de pollution dans le sol contaminé aux hydrocarbures. Les données montrent que, dans les sols cultivés par la luzerne, *Brassica napus*, la moutarde blanche ou l'avoine, les concentrations en formes azotées disponibles (nitrates, nitrites, ammonium) restent faibles, tandis que la demande chimique en oxygène (DCO) et le carbone organique total (COT) sont élevés. Les sulfates apparaissent aussi en quantités significatives, et les cyanures sont quasiment absents.

La présence limitée de nitrates, nitrites et ammonium suggère que la pollution par les hydrocarbures détourne les cycles de l'azote vers des formes moins mobiles ou fixées dans la matière organique ou les microbes. Dans les sols contaminés, l'azote minéral est souvent rapidement immobilisé par les micro-organismes qui utilisent les hydrocarbures comme source de carbone, ce qui limite la disponibilité pour les plantes (Begbeg, 2017). Les valeurs

élevées de DCO et de COT indiquent une forte charge organique non dégradée, caractéristique des sols pollués aux hydrocarbures. Cette accumulation traduit une persistance des composés organiques hydrophobes dans le sol. En contexte de pollution pétrolière, de nombreux hydrocarbures complexes ne sont pas facilement dégradés, ce qui maintient une forte demande en oxygène pour leur oxydation (Bebeg, 2017). Ces indicateurs sont donc de bons marqueurs de la pollution organique dans les sols affectés.

La détection de sulfates en quantité notable suggère des processus d'oxydation des composés soufrés présents dans les hydrocarbures, ou la transformation d'autres composés organiques soufrés. En effet, lors de la biodégradation des huiles, les sulfures ou groupes thiols peuvent être oxydés en sulfates, augmentant la concentration en ions sulfate dans le sol (Tentart, 2021).

L'analyse par spectroscopie FTIR permet de comparer les signatures spectrales du sol témoin non contaminé et des sols contaminés par hydrocarbures cultivés avec différentes espèces.

Le spectre du sol témoin non cultivé est dominé par de larges bandes O-H ($\approx 3400 \text{ cm}^{-1}$) et Si-O ($\approx 1000\text{--}1100 \text{ cm}^{-1}$), caractéristiques de l'humidité et des minéraux argileux. L'absence de bandes C-H aliphatiques ($\approx 2950\text{--}2850 \text{ cm}^{-1}$) confirme l'absence de contamination organique significative. Ces observations sont conformes aux profils spectroscopiques des sols naturels rapportés par Guettaf (2014). Dans tous les sols contaminés, les spectres révèlent des bandes intenses entre 2950 et 2850 cm^{-1} , traduisant les vibrations C-H des hydrocarbures aliphatiques. Des pics carbonyles ($\approx 1700\text{--}1650 \text{ cm}^{-1}$) et aromatiques ($\approx 1630 \text{ cm}^{-1}$, 874–700 cm^{-1}) apparaissent également, confirmant la présence de composés pétroliers (Berkouche & Hadjadj, 2015). Ces signaux n'existent pas dans le sol témoin, ce qui constitue un marqueur clair de la contamination. La comparaison avec le sol témoin montre que la contamination introduit des bandes caractéristiques (C-H, C=O, C=C) absentes du spectre initial. Les sols cultivés par la moutarde blanche et *Brassica napus* présentent les signes de transformation les plus avancés (augmentation des bandes carbonyles et C-O), alors que la luzerne et l'avoine conservent davantage de signatures aliphatiques. Ces différences confirment que certaines espèces végétales favorisent la biodégradation des hydrocarbures en stimulant les processus oxydatifs dans la rhizosphère (Berkouche & Hadjadj, 2015).

L'analyse GC/FID met en évidence des différences nettes entre les sols non contaminés, contaminés non cultivés et contaminés cultivés. Le sol blanc présente une très faible teneur en hydrocarbures, proche du seuil de détection. Cette valeur est conforme à un sol naturel non pollué, tel que rapporté par Berkouche et Hadjadj (2015). La concentration maximale en hydrocarbures est enregistrée dans le sol pollué non cultivé, traduisant une accumulation sans mécanisme de réduction. Ce profil est typique des sols exposés au pétrole brut sans intervention biotique ou abiotique (Guettaf, 2014). Le sol cultivé par la luzerne conserve une charge élevée en hydrocarbures, montrant une efficacité limitée de cette espèce dans la stimulation de la biodégradation. Certaines légumineuses présentent une tolérance au stress pétrolier mais un effet réduit sur la dépollution (Boumraf, 2013).

Brassica napus et Moutarde blanches distinguent par une forte diminution des hydrocarbures. Les spectres chromatographiques montrent une réduction significative des pics associés aux hydrocarbures lourds. Ces résultats confirment que les Brassicacées favorisent la biodégradation grâce à leurs exsudats racinaires et à la stimulation d'une microflore spécialisée (Berkouche & Hadjadj, 2015). Les graminées comme l'avoine possèdent un système racinaire capable de stimuler modérément l'activité microbienne de la rhizosphère, ce qui explique une certaine réduction des hydrocarbures. Toutefois, leur efficacité reste limitée par rapport aux crucifères, dont les exsudats radiculaires soufrés activent davantage les processus de dégradation (Rahmoun, 2019).

L'analyse du dénombrement bactérien révèle une tendance générale à une densité microbienne plus élevée dans les sols contaminés par les hydrocarbures, en comparaison avec les sols non contaminés. La comparaison entre le sol blanc (non contaminé) et le sol pollué non cultivé (SP) confirme que la contamination aux hydrocarbures stimule naturellement la microflore indigène, avec des densités bactériennes nettement plus élevées aux faibles dilutions (10^{-1} à 10^{-3}). Les sols pollués par hydrocarbures favorisent le développement de communautés bactériennes spécialisées, principalement des genres hydrocarbonoclastes comme *Pseudomonas* et *Rhodococcus* (Bensaci, 2017). Chez la luzerne, le dénombrement bactérien montre des valeurs plus élevées dans le sol contaminé que dans le sol témoin, avec une diminution progressive suivant les dilutions. L2 enregistre les plus fortes densités microbiennes. Cette dynamique s'explique par l'effet stimulant de la rhizosphère de la luzerne, connue pour favoriser l'abondance de bactéries dégradatrices. Les légumineuses enrichissent la microflore grâce à la libération d'exsudats racinaires riches en composés

azotés, ce qui accroît la dégradation des hydrocarbures (Rahmoun, 2019), pour *Brassica napus*, les résultats indiquent une augmentation notable des charges microbiennes en sol contaminé, avec une bonne homogénéité entre répétitions. La rhizosphère de *Brassica napus* stimule particulièrement les bactéries hydrocarbonoclastes grâce à la libération de glucosinolates et composés soufrés. *Brassica* améliore la biodisponibilité des hydrocarbures, augmentant la prolifération microbienne (Tentart, 2021).

Le dénombrement bactérien lié à la moutarde blanche est plus élevé en sol contaminé, avec une homogénéité entre répétitions. Ce résultat confirme l'intérêt des crucifères dans la phytoremédiation. Les composés allélopathiques exsudés par les racines de la moutarde stimulent la croissance de microorganismes capables de dégrader les fractions pétrolières complexes (Benali, 2018). Chez l'avoine, les sols contaminés présentent également des densités bactériennes plus élevées que les sols témoins. Bien que l'avoine montre une homogénéité entre répétitions, ses valeurs microbiennes restent généralement inférieures à celles enregistrées pour *Brassica* et la moutarde. Selon Rahmoun (2019), les graminées possèdent un effet modéré sur la stimulation microbienne comparativement aux légumineuses et crucifères.

Les résultats des galeries API 20E mettent en évidence une prédominance des Enterobacteriaceae, marquée dans les sols contaminés par les hydrocarbures, où les profils biochimiques révèlent davantage de réactions positives (fermentations, uréase, gélatinase, utilisation du citrate), traduisant une activité métabolique accrue (Benguela, 2022, p. 210). La pollution exerce donc un effet sélectif en favorisant des bactéries spécialisées capables d'utiliser les hydrocarbures, alors que les sols non contaminés présentent une flore plus simple et généraliste (Henner, 2000). La culture des plantes (luzerne, avoine, moutarde blanche, *Brassica napus*) influence également la composition de la microflore en enrichissant la rhizosphère, notamment en bactéries dégradatrices stimulées par les exsudats racinaires. Ces résultats concordent avec des travaux antérieurs qui associent *Klebsiella*, *Proteus* ou *Enterobacter* à la biodégradation des hydrocarbures grâce à leurs gènes cataboliques et, parfois, leur production de biosurfactants (Nguemte, 2019). Les sols contaminés présentent une microflore plus riche et active, dominée par les Enterobacteriaceae, mais influencée par la présence des plantes. Toutefois, la confirmation du rôle effectif de ces bactéries dans la dégradation nécessite des analyses complémentaires (Es-Skalli, 2015).



Conclusion générale

Conclusion générale

L'étude réalisée a mis en évidence le rôle important des plantes dans la phytoremédiation des sols contaminés par les hydrocarbures, en tenant compte à la fois des caractéristiques physico-chimiques (pH variant de 7,4 chez la luzerne à 8,37 chez l'avoine), de l'évolution de la microflore (densité maximale de $2,1 \times 10^7$ UFC/g chez la moutarde blanche contre $8,5 \times 10^6$ UFC/g dans le témoin non cultivé) et de la dégradation des polluants. Les différentes espèces testées (luzerne, avoine, Brassica napus et moutarde blanche) ont montré des comportements distincts face à la contamination, confirmant l'hypothèse selon laquelle certaines plantes favorisent la dépollution et la stimulation microbienne.

Les résultats obtenus par spectroscopie infrarouge (FTIR) ont révélé la persistance de bandes caractéristiques des hydrocarbures (C–H à 2920 cm^{-1} et C=O à 1730 cm^{-1}) dans le sol contaminé, mais avec des variations selon l'espèce cultivée, suggérant une dégradation partielle. L'analyse chromatographique GC/FID a confirmé cette tendance : le sol non cultivé contaminé présentait la plus forte charge en hydrocarbures (3,84 g/kg), tandis que *Brassica napus* et la moutarde blanche ont montré une réduction marquée des concentrations (1,95 g/kg et 1,72 g/kg respectivement), traduisant leur efficacité dépolluante.

Parallèlement, l'analyse microbiologique a mis en évidence une densité microbienne plus élevée dans les sols contaminés que dans les sols témoins, reflétant une stimulation de la microflore par les hydrocarbures. Cette tendance a été renforcée par les cultures végétales, qui, via leurs exsudats racinaires, ont favorisé le développement de communautés spécialisées (jusqu'à $2,1 \times 10^7$ UFC/g chez la moutarde blanche). L'identification par API 20E a confirmé la présence de bactéries appartenant majoritairement à la famille des Enterobacteriaceae (65 % des isolats identifiés), reconnues pour leur potentiel de biodégradation.

Ainsi, l'ensemble de ces résultats confirme que la phytoremédiation constitue une approche efficace et écologique pour réduire la contamination hydrocarbonnée des sols. Chaque espèce testée a contribué différemment à la dépollution, avec une efficacité particulièrement marquée chez Brassica napus et la moutarde blanche.

Ce travail confirme donc que l'association entre végétaux et micro-organismes joue un rôle déterminant dans la dégradation des polluants, et ouvre la voie à des perspectives prometteuses pour l'utilisation de la phytoremédiation comme solution durable de réhabilitation des sols contaminés.

Perspectives

- Tester d'autres espèces végétales locales adaptées aux conditions pédoclimatiques.
- Associer plusieurs plantes pour renforcer la dépollution .
- Optimiser l'action conjointe plantes microorganismes par l'inoculation de souches bactériennes spécifiques.
- Valoriser la phytoremédiation comme solution durable et économique de réhabilitation des sols pollués.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

- Ait Yahia, I. (2017). *Bioremédiation d'un sol contaminé par les hydrocarbures* (Mémoire de Master, Université Ibn Khaldoun, Tiaret), p. 41.
- Aït Yahia, N. (2015). Effet de la contamination des sols par les hydrocarbures sur la croissance et le développement de quelques espèces végétales Université de Béjaïa. p. 121.
- AFES. 2018. « Les sols, définitions et enjeux ». 2018. <https://www.afes.fr/les-sols/definition-et-enjeux/>.
- Alaqarbeh, M. (2021). *Adsorption Phenomena: Definition, Mechanisms, and Adsorption Types: Short Review*. RHÂZES: Green and Applied Chemistry, 13. [https://doi.org/10.48419/IMIST.PRSM/rhazesv13.28283](https://doi.org/10.48419/IMIST.PRSM/rhazes-v13.28283)
- Aouad, S. (2017). Contribution à l'étude des sols calcimagnésiques et de leur rôle dans la rétention des polluants organiques Université de Tlemcen. p. 201.

-B-

- Baize, D. (2016). *Petit* Lexique de pédologie(Christel Desmaris).
- Begbeg, A. (2017). *Paramètres DBO, DCO, COT et biodégradabilité : étude de produits chimiques de l'industrie pétrolière* (Thèse de doctorat, École Nationale Polytechnique, Alger), p. 74.
- Bireche Y., Berregui F., 2014. Effets de la salinité sur l'activité des bactéries hydrocarbonoclastes .Mémoire de master académique. Microbiologie appliquée:Université Kasdi Merbah. Ouargla, p 64
- Benali, S. (2018). *Contribution à l'étude de la phytoremédiation des sols pollués par les hydrocarbures à l'aide de crucifères* (Thèse de doctorat, Université de Batna 2). p. 129.

Références bibliographiques

- Benbachir, L., & Moussous, C. (2022). *Caractéristiques physico-chimiques de sols pollués par les hydrocarbures : cas de la station-service de Bouzeguène* (Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri), p. 33.
- Benbrahim, K. (2014). Étude de la capacité de certaines crucifères à accumuler la biomasse en sol pollué Université de Constantine. p. 133.
- Benguela, A. (2022). *Bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures* (Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem). p. 210.
- Benkhelifa, R. (2017). Caractérisation physico-chimique et minéralogique des sols de la région de Sétif et leur impact sur la productivité agricole Université de Sétif. p. 95.
- Bensaci, A. (2017). *Caractérisation des communautés microbiennes des sols pollués par les hydrocarbures : diversité et potentiel de biodégradation* (Thèse de doctorat, Université de Bejaia). p. 210.
- Bensaid, A. (2018). Étude de la germination et de la croissance de quelques espèces fourragères en conditions de stress hydrique Université de Tlemcen. p. 75.
- Benslama, H. (2017). *Étude de l'impact de la pollution par les hydrocarbures sur les sols agricoles et leur biodégradation* (Thèse de doctorat, Université de Annaba), p. 128.
- Benslama, H. (2017). Étude de l'impact de la pollution par les hydrocarbures sur les sols agricoles et leur biodégradation(, Université de Annaba), p. 122.
- Berkouche, H., & Hadjadj, H. (2015). Essai de phytoremédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures (Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou). p. 78, 105.
- Berkouche, H., & Hadjadj, H. (2015). *Essai de phytoremédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures (, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou). p. 65, 105.
- Bouguerra, H. (2019). Comportement physiologique de Brassica napus en conditions de stress et potentiel en phytoremédiation Université de Batna. p. 112.
- Bouguerra, H. (2019). Comportement physiologique de Brassica napus en conditions de stress et potentiel en phytoremédiation Université de Batna. p. 102.

Références bibliographiques

- Boukerma, H. (2015). Minéralogie des argiles et leur interaction avec les métaux lourds et hydrocarbures dans les sols. Université de Constantine. p. 175.
- Boulmane, L. (2014). Caractérisation physico-chimique et minéralogique des sols sableux et limoneux du Nord de l'Algérie. Université de Blida. p. 87.
- Boumraf, B. (2013). Caractéristiques et fonctionnement des sols dans la vallée d'Oued Righ (Sahara nord-oriental, Algérie)* (Thèse de doctorat, Université de Reims). p. 142.

-C-

- Chaineau, C. H., & Morel J.L., Oudot J. (2000). Biodegradation of fuel oil Hydrocarbons in the rhizosphere of maize. 29, pp: 569-578.
- Chantigny, M., & Angers, D. (2005). Activité microbologique et qualité des sols : quoi de neuf sous nos pieds. édition CRAAQ, Pp 2-10 .
- Chen, J., Xia, X., Wang, H., Zhai, Y., Xi, N., Lin, H., & Wen, W. (2019). Uptake pathway and accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in spinach affected by warming in enclosed soil/water-air-plant microcosms. *Journal of Hazardous Materials*, 379, 120831. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120831>
- Clément, M., & Pieltain, F. (2009). Analyse chimique des sols. Edition TEC et DOC, 387p.
- Colin F. 2000 : Pollution localisée des sols et des sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés. Edition Tec et Doc. Paris. 417pp.

-D-

- Dajoz R., 2000. Précis d'écologie. Ed. DUNOD. Paris. 542p.
- DELAGE P. et SCHREFLER B., 2005. Géomécanique environnementale : sols pollués et déchets. Lavoisier. 249 p.
- Djamai, M. (2016). Étude minéralogique et géochimique des sols dérivés de matériaux parentaux magmatiques et métamorphiques Université de Béjaïa. p. 142.

Références bibliographiques

- Djoudi, H. (2016). Étude de la dynamique des sols alluvionnaires en relation avec leurs propriétés physiques et chimiques Université de Constantine. p. 134.
- Duchaufour, p. (2004). Introduction à la science du sol : végétation, environnement. 2e cycle 6eme édition. Ecoles d'ingénieurs. CAPES : Ed DUNOD, 331 p.

-E-

- Es-Skalli, A. (2015). *Analyse physico-chimique des sols agricoles* (Mémoire de master, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Faculté des Sciences et Techniques). p. 43.

-F-

- Fattal P. 2008 :Pollution des cotes par les hydrocarbures. Presse universitaire de Rennes.498pp.

-G-

- Girad C.M., Walter CH et Berthelin J., 2005. Sols et environnement Ed DUNOD,Paris (France). 529 p.
- Girard C.M., Walter CH.et Berthelin J., 2005 :Sols et environnement. Edition DUNOD,Paris (France).436p.
- Girard, Michel-Claude, Christian Walter, Jean-Claude Rémy, Jacques Berthelin, et Jean-Louis Morel. 2011. Sols et environnement: un cours complet, des exercices, dessuppléments en ligne. 2e éd. Paris: Dunod.
- Glick, B. R., & Patten, C. L. (2002). *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA* (3rd ed.). ASM Press
- GOUHIER V. 2014.Résilience des écosystèmes après un déversement d'hydrocarbures : Essai pour l'obtention du grade de maitre en science. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. 107p.
- Guettaf, M. (2014). Caractérisation et remédiation des sols pollués par hydrocarbures en zone agricole (Université de Guelma). p. 134.

Références bibliographiques

- * Guettaf, M. (2014). *Caractérisation et remédiation des sols pollués par hydrocarbures en zone agricole* (Université de Guelma). p. 112.

-H-

- Hamdi, F. (2016). Impact de la pollution pétrolière sur la croissance et le rendement des crucifères Université de Ouargla. p. 88.
- Hammoudi, F. (2020). *Effet de la contamination pétrolière sur les propriétés physico-chimiques et biologiques des sols* (Thèse de doctorat, Université de Boumerdès), p. 112.
- Hammoudi, F. (2020). Effet de la contamination pétrolière sur les propriétés physico-chimiques et biologiques des sols,(Université de Boumerdès), p. 149.
- Henner, P. (2000). *Phytoremédiation appliquée au traitement de sols contaminés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques* (Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine). p. 180.
- He, D., Wang, X., Yang, Y., He, R., Zhong, H., Wang, Y., Han, B., & Jin, F. (2021). Hydrothermal synthesis of long-chain hydrocarbons up to C₂₄ with NaHCO₃-assisted stabilizing cobalt. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(51), e2115059118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2115059118>

-I-

- Imron, M. F., Kurniawan, S. B., Ismail, N. 'Izzati, & Abdullah, S. R. S. (2020). Future challenges indiesel biodegradation by bacteria isolates: A review. *Journal of Cleaner Production*, 251, 119716. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119716>

-K-

- Khelifi, A. (2020). *Contribution à l'étude de la dépollution des sols contaminés par hydrocarbures* (Mémoire de doctorat, Université de Boumerdès).
- Koller E. 2009 :Traitement des pollutions industrielles (eau, air, déchet, sol, boues). Edition DUNOD. 2ème Edition. Paris. 424 pp.

Références bibliographiques

- Koller E., 2004. Traitement des pollutions industrielles. Edition DUNOD Paris.
277- 347-424p.569p.

-L-

- Lecomte P., 1998. Les sites pollués: traitement des sols et des eaux souterraines. 2^{ème} Edition Lavoisier TET et DOT. 204 p.

-M-

- Mansouri, F. (2019). *Les hydrocarbures et leurs effets écotoxicologiques sur l'environnement*. Mémoire de doctorat, Université de Constantine 1.
- Massenet, Jean-Yves. 2010. « Les constituants solides du sol ». 2010. <http://jymassenet-foret.fr/cours/pedologie/PEDO3.pdf>.
- Mebarki, F. (2017). Effet des stress abiotiques sur la germination et la croissance de quelques céréales Université de Sétif. p. 64.
- * Meziani, K. (2018). *Rôle des légumineuses dans la phytoremédiation des sols pollués par les hydrocarbures* (Thèse de doctorat, Université de Tizi-Ouzou), p. 90-91.
- * Meziani, K. (2018). Rôle des légumineuses dans la phytoremédiation des sols pollués par les hydrocarbures, (Université de Tizi-Ouzou), p. 88.

-N-

- Nesri, A. E., & Kouidri, N. (2019). *Étude de l'effet du forage pétrolier sur les propriétés physico-chimiques du sol dans la région de Haoud El-Hamra (HassiMessaoud - Ouargla)*. Université de El Oued.p 45
- Nguemte, P. M. (2019). *Phytoremédiation des sols pollués par les hydrocarbures* (Thèse de doctorat, Université de Lorraine). p. 225.

-O-

- Origo N., Wichherek S ., HOYAT M., 2012 :Réhabilitation des sites pollués par phytoremediation. Revue électronique en science de l'environnement Vertige : 12: 9-13.

-P-

- Peixoto, J. R. O., Silva, G. C., Costa, R. A., de Sousa Fontenelle, J. res L., Vieira, G. H. F., Filho, A. A.F., & Vieira, R. H. S. dos F. (2011). *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(3), 201–204. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60069-2](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60069-2).

-R-

- Rahma, S. (2017). *Pollution pétrolière et impacts environnementaux : étude bibliographique*. Mémoire de doctorat, Université d'Oran 1.
- Rahmani, R. (2018). *Techniques de dépollution des sols contaminés : comparaison et perspectives* (Mémoire de Master, Université de Béjaïa).
- Rahmoun, S. (2019). *Interactions plante-sol en conditions de pollution pétrolière : cas des graminées et légumineuses* (Thèse de doctorat, Université de Ouargla). pp. 136, 142.
- Rahmoun, S. (2019). *Interactions plante-sol en conditions de pollution pétrolière : cas des graminées et légumineuses* (Université de Ouargla) p 136
- 24 : Ramade F., 2007. Introduction à l'écotoxicologie. Fondements et applications. Edition Tec et Doc. Lavoisier. 618p.

-S-

- Saada A., Nowak C. et Coquereau N., 2005.L'état des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures. Edition BRGM.107 p.
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., & Deneff, K. (2004). A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil & Tillage Research*, 79*(1), 7–31.
- SOLTANI M., 2004.Distribution lipidique et voies de décontamination métabolique chez quatre bactéries Gram négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse de doctorat d'univers Paris. 284 p.

Références bibliographiques

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

-T-

- * Tentart, Y. (2021). *Remédiation d'un sol pollué par des hydrocarbures par l'utilisation de plantes et de microorganismes* (Thèse de doctorat, École Nationale Polytechnique, Alger). p. 185.
- * Tentart, Y. (2019). *Remédiation d'un sol pollué par des hydrocarbures : couplage de procédés d'oxydation et de bioremédiation* (Thèse de doctorat).scientifiques récents sur sols pétrolés).

-V-

- Vanobberghen.,la phytoremediation en Wallonie : évaluation du potentiel D'assainissementdu sol contaminé en métaux lourds. Mémoire de master en Science et Gestion de l'environnement. Universitaire de Bruxelles. P48-53

-W-

- Watt, E. A., Laycock, D. P., Michael, E., Tobin, R. C., Kelly, S., & Johnston, M. N. (2022). Hydrocarbo charge and petroleum system evolution of the Montney Formation: A multidisciplinary case study of the Blueberry sub-play in Northeast British Columbia, Canada. Bulletin of Canadian Energy Geoscience,69(1), 21–50. <https://doi.org/10.35767/gscpgbull.69.1.021>



Annexes

Annexe 1 analyse granulométrique

Généralités sur l'équipement utilisé

L'analyse des échantillons a été réalisée à l'aide d'une granulométrie à Laser de type LA 950 (Fig. 01) qui est un kit composé des éléments suivants :

Un analyseur, comprenant principalement un générateur de source laser, deux possibilités d'analyses (voie humide et voie sèche), une façade de convergence de lumière, 87 détecteurs (capteurs) et une carte électronique d'interface.

Deux échantillonneurs (voie humide et voie sèche)

La voie liquide avec une gamme granulométrique de 0.01 microns jusqu'à 3000 microns

La voie sèche avec une gamme granulométrique de 0.1 microns jusqu'à 3000 microns

Un logiciel de calcul de conception OPEXCEL



Granulométrie à laser de type LA 950.

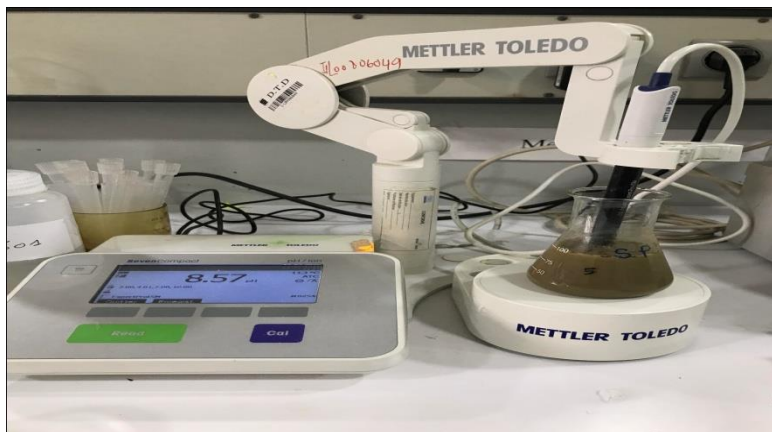
Annexe 2 Analyse par diffractométrie des rayons X (DRX)

Principe d'analyse

L'échantillon solide finement broyé ($<60\mu\text{m}$) est monté sur un porte échantillon adéquat, puis soumis à un faisceau de rayons X pour être diffractés par les plans réticulaires des phases cristallines présentes. En effet, il existe une relation entre l'angle du faisceau diffracté et la distance réticulaire séparant les plans d'atomes au sein d'un réseau cristallin ; celle-ci est régie par la loi de Bragg $n\lambda = 2d\sin\theta$ (où λ = longueur d'onde en angströms, d = distance réticulaire en angströms et θ = angle de diffraction ou de réflexion en degrés).

Les diffractogrammes ainsi obtenus, à l'aide d'un diffractomètre à rayons X, sont interprétés. Les positions et les intensités des pics observés sont comparés aux fichiers de référence PDF-2 et ICSD (Powder Diffraction File - Inorganic crystal structure database) pour l'identification des phases minéralogiques présentes

Annexe 3 analyse du potentiel hydrogène



pH metre METTLER TOLEDO

La détermination du pH se fait par électrométrie et pour cela on a adopté le mode opératoire suivant :

- Peser 50ml d'échantillon dans un bécher
- On rince l'électrode avec de l'eau distillée pour l'étalonnage (calibration à
- Plonger l'électrode dans une solution tampon avec un pH =7 puis rincer avec l'eau distillée
- On plonge la sonde dans la solution à mesurer
- Mettre la solution en agitation
- Attendre la stabilisation de la lecture
- Lire la valeur du pH affiché sur le pH-mètre (METTLER TOLEDO)

Annexe 4 : analyse de conductivité électrique

Mode d'emploi

- Calibrage de la sonde avec de l'eau distillée
- Plonger la sonde dans une solution étalonnée jusqu'à stabilisation
- Rinçage après calibration
- Plonger la sonde dans 50ml de la solution à échantillonné
- Attendre la stabilisation de la lecture et lire la valeur affichée

Annexe 5 analyses d'indicateur de pollution



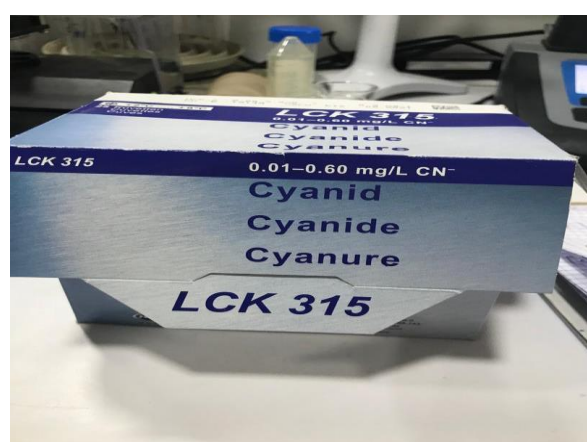
Test en cuve LCK 340



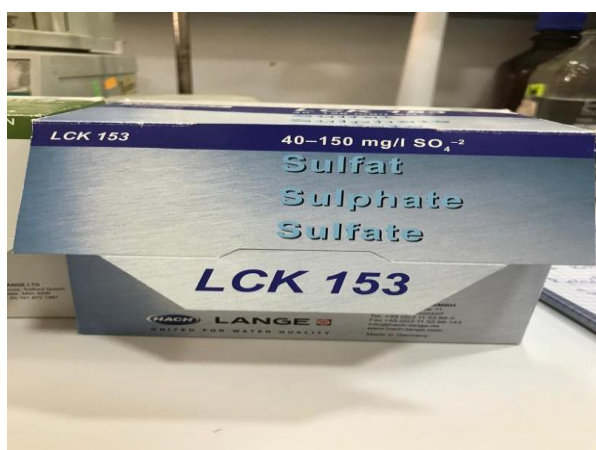
Test en cuve Lck 304



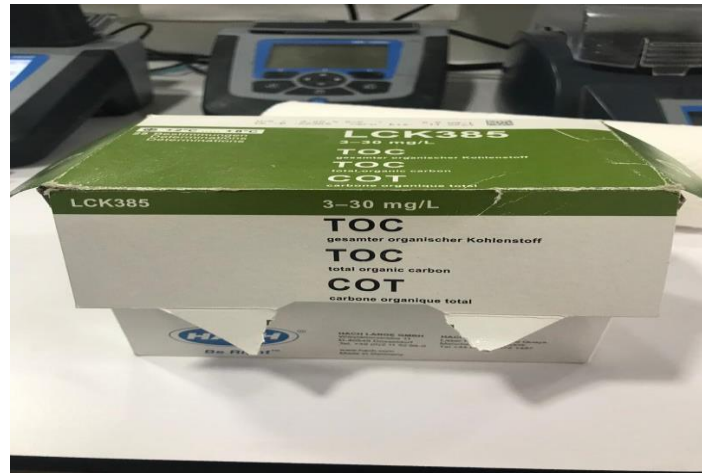
Test en cuve LCK 342



Test en cuve 153



Test en cuve LCK 153



Test en cuve LCK 385

Annexe 6 Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier

La spectroscopie infrarouge appelé en anglais (FTIR) Fourier Transformed Infrared Spectroscopy, est une technique de mesure basé sur analyse d'un rayonnement infrarouge à Travers l'échantillon. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer une topographie des fonctions chimiques présentes dans le matériau.



Annexe 7 : Analyse chromatographique GC/FID

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode de séparation dont les principes généraux sont les mêmes que ceux énoncés pour la chromatographie en général, c'est-à-dire fondés sur la migration différentielle des constituants du mélange à analyser au

travers d'un substrat choisi. La particularité du procédé est d'opérer en totalité sur des produits volatilisés.

Annexe 8 : extraction au soxhlet

Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche

Résumé et Abstract

Résumé

La pollution des sols par les hydrocarbures constitue un enjeu environnemental majeur, particulièrement en Algérie où les activités pétrolières et industrielles accentuent ce phénomène.

Face aux limites des méthodes de dépollution physico-chimiques, la phytoremédiation apparaît comme une approche écologique et durable.

L'objectif de ce travail a été d'évaluer le potentiel de quatre espèces végétales (luzerne, colza, moutarde blanche et avoine) dans la dépollution d'un sol contaminé par le pétrole brut.

Les résultats obtenus montrent que la luzerne, le colza et la moutarde blanche se développent favorablement, tandis que l'avoine présente une adaptation limitée. Parmi les espèces étudiées, le colza et la moutarde blanche se distinguent par une meilleure croissance, une production de biomasse importante et une efficacité plus marquée dans la réduction de la contamination.

L'étude a également mis en évidence la stimulation de la microflore du sol, favorisée par les exsudats racinaires et jouant un rôle clé dans la dégradation des hydrocarbures. Ce travail confirme ainsi que l'association entre plantes et micro-organismes représente une stratégie prometteuse pour la réhabilitation écologique et durable des sols pollués par les hydrocarbures.

Mots-clés : Pollution des sols, Hydrocarbures, Phytoremédiation, Microflore, Dépollution biologique, Brassica napus, Moutarde blanche, Luzerne, Avoine.

Abstract

Soil pollution by hydrocarbons is a major environmental issue, particularly in Algeria where petroleum and industrial activities intensify this phenomenon.

Given the limitations of physico-chemical remediation methods, phytoremediation emerges as an ecological and sustainable approach.

The objective of this study was to evaluate the potential of four plant species (alfalfa, rapeseed, white mustard, and oat) in the remediation of a soil contaminated with crude oil.

The results showed that alfalfa, rapeseed, and white mustard developed favorably, while oat exhibited limited adaptation.

Among the studied species, rapeseed and white mustard stood out with better growth, greater biomass production, and higher efficiency in reducing contamination.

The study also highlighted the stimulation of soil microflora, enhanced by root exudates, which played a key role in hydrocarbon degradation.

This work thus confirms that the association between plants and microorganisms represents a promising strategy for the ecological and sustainable rehabilitation of hydrocarbon-polluted soils.

Keywords: Soil pollution, Hydrocarbons, Phytoremediation, Microflora, Biodegradation, Brassica napus, White mustard, Alfalfa, Oat.