

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master
En Ecologie et Environnement
Spécialité : Biodiversité et Environnement

Thème

*Contribution à l'évaluation du risque
écologique dans un site pollué
Cas de la station-service de Boukhalfa*

Présenté par : M^{elle} Laoubi Haiat

Devant le jury :

Présidente : M^{me} Sadoudi-Ali Ahmed D.
Promotrice : M^{me} Ali Ahmed S.
Examinatrice : M^{me} Sahmoune F.

Professeur à l'UMMTO
M.A.A. à L'U.M.M.T.O
M.A.A. à l'UMMTO

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

En premier, je remercie Dieu de m'avoir donné santé, patience, courage et volonté d'entamer et de terminer ce modeste travail.

C'est autant un plaisir qu'un devoir pour moi d'exprimer ma gratitude et ma reconnaissance à Mme ALI AHMED S., qui m'a orientée et guidée afin de mener à bien ce travail.

Je remercie aussi très sincèrement les membres du jury ; la présidente Mme Sadoudi-Ali Ahmed D., professeur à la FSBSA pour avoir accepté de présider ce jury et Mme Sahmoune F., MAA à la FSBSA pour avoir accepté d'expertiser ce travail.

Je voudrais aussi témoigner ma reconnaissance et exprimer toute ma gratitude à mes enseignants qui ont participé à ma formation.

Merci, également, à toutes les personnes travaillant au laboratoire "Pathologie des Écosystèmes" de la FSBSA.

Enfin, je tiens à remercier toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, à tous ceux qui m'ont apporté leur aide.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents, Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

À mes chers frères, Mohand et M'hena.

À mes chers sœurs, Lilia et Kahina ainsi leurs époux.

À nos petites zindine et zilane

À la mémoire de mon oncle Rachid

Toute la promotion de biodiversité et environnement.

Haiat

Liste des abréviations

BDI : Bases de Données Internationales.

C: Contaminé.

CAT : Catalase.

CE50 : Concentration en polluant qui cause un effet toxique (néfaste) donné chez 50 % des individus exposés (pour une espèce donnée) après un temps d'exposition normalisé.

CA : Contaminé accidentellement.

CSN : Concentration sans effets

EDRE : Évaluation des Risques Écologiques.

ESR : Évaluation simplifié de risque.

ED : Évaluation détaillée de risque.

HC : Hydrocarbures.

MO : Matière organique.

NOEC : Concentration sans effet observé.

PEC : Concentration prévisible dans l'environnement.

PNEC : Concentration sans effet prévisible sur l'environnement.

T : Témoin.

Liste des figures

Figure.1: Sources de pollution du sol dans une station-service	4
Figure.2: Image satellite de la station-service de Boukhalfa.....	11
Figure. 3 : Dispositif expérimental du test de toxicité aigüe sur les vers de terre de l'espèce <i>Allolobophora rosea</i>	18
Figure.4: Protocole de mesure de la respiration microbienne du sol.....	19
Figure.5 : Protocole de dosage de l'activité de la catalase.....	20
Figure.6: Taux de germination des graines du maïs dans les différents sols.....	23
Figure.7: Biomasse aérienne du maïs dans les différents sols.....	24
Figure.8: Biomasse racinaire du maïs dans les différents sols.....	24
Figure.9: Biomasse des vers de terre de l'espèce <i>Allolobophora rosea</i> dans les différents sols.....	26
Figure.10: Biomasse microbienne dans les différents sols.....	27
Figure.11: Activité de la catalase dans les différents sols.....	28

Liste des tableaux

Tableau I : Classes de quantité	13
Tableau II : Classes de fréquence d'utilisation.....	14
Tableau III : Classes d'exposition potentielle.....	14
Tableau IV: Classes de risque potentiel	15
Tableau V: Caractérisation des priorités en fonction du score de risque potentiel.....	15
Tableau VI : Effet des carburants sur la survie des vers de terre de l'espèce <i>Allobophora rosea</i> pendant 14 jours d'exposition.....	25

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. Pollution du sol par les hydrocarbures	3
I.1.Généralité sur les hydrocarbures	3
I.2.Classification des hydrocarbures	3
I.3.Sources de pollution dans les stations-service	4
I.4.Devenir des hydrocarbures dans le sol	5
I.5.Effets écotoxicologique des hydrocarbures	6
II. Évaluation du risque écologique des sols pollués aux hydrocarbures.....	7
II.1.Identification du danger	7
II.2.Caractérisation de l'exposition	8
II.3.Caractérisation des effets	8
II.4.Caractérisation de risque	9
Chapitre II : Matériels et méthodes	
I. Matériels.....	11
I.1. Sol.....	11
I.2. Matériel végétal	11
I.3. Faune du sol	12
I.4. Carburants	12
II. Méthodes	12
II.1. Méthode d'échantillonnage	12
II.2.Contamination du sol	13
II.3. Evaluation simplifiée du risque écologique.....	13
II.4. Evaluation détaillée du risque écologique du site pollué aux carburants.....	16
II.5.Tests d'écotoxicité	16
II.6.Test de toxicité aïgue sur les vers de terre.....	17
II.7. Activité biologique du sol	18
II.8. Réalisation des bio-essais.....	19
III. Méthodes d'analyse statistique	19

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Résultats.....	20
I.1. Estimation du danger des sols pollués aux hydrocarbures par l'ESR.....	20
I.2. évaluation détaillée du risque écologique du site pollué aux carburants.....	21
I.3. Effets des hydrocarbures sur le végétal	21
I.4. Effets des hydrocarbures sur la macrofaune de sol	24
I.5. Effets des hydrocarbures sur les paramètres biologiques du sol.....	26
II. Discussions.....	27
Conclusion et perspectives.....	31

Références bibliographiques

Liste des annexes

Résumé

Introduction generale

Du siècle dernier, l'importance de l'industrie pétrolière n'a cessé de croître, grâce au rôle stratégique et politique joué par le pétrole sur la scène à l'échelle mondiale (Soltani, 2004).

En Algérie, l'exploitation des gisements de pétrole n'a fini d'augmenter ces dernières années (Sonatrach, 2010) et constituent généralement les principaux contaminants à la fois pour les écosystèmes aquatiques que terrestres. La pollution par les hydrocarbures occupe, au sein de la préoccupation environnementale, une place particulière, qui est due à leur rémanence et leur toxicité. Cette contamination est susceptible d'une bioaccumulation dans les chaînes alimentaires, en présentant des toxicités pour le végétal, l'animal et des risques pour la santé humaine (Soltani, 2004).

Les produits pétroliers, issus notamment des stations-service, sont les principales causes des pollutions constatées suite à la corrosion des cuves de stockage ou des fuites de canalisations entre les citernes et les îlots de pompes (Colin, 2001). D'après la direction de l'environnement de la Wilaya de (Tizi Ouzou, 2014), quatre-vingt-trois stations-service fonctionnelles sont implantées dans la wilaya, sept sont en cours de réalisation et quatorze sont en projet. Malheureusement, la majorité de ces stations sont implantées sur des terres agricoles.

Les hydrocarbures ont été l'objet de plusieurs études afin de quantifier leur impact sur les paramètres physiques (texture, densité, etc.) et chimiques (MO, pH, C, N, P, etc.) (Doran et Safley, 1997). Les études se sont orientées vers une approche biologique plus apte à interpréter la qualité d'un sol (Bastida *et al.*, 2008).

L'évaluation du risque est une opération systématique pour décrire et quantifier les risques associés à des produits dangereux, des opérations, des actions ou des événements (Covello et Merkhofer, 1993) et estimer l'importance et la probabilité d'effets négatifs des substances anthropogéniques sur l'environnement (Volmer *et al.*, 1988).

La connaissance des risques environnementaux liés à la production des hydrocarbures est impérative pour faire face aux pollutions engendrées par ces derniers. Parmi les pollutions les plus spectaculaires générées figurent les déversements des fluides pétroliers tels que le pétrole brut, le gasoil, le fuel, l'essence et le kérosène (Lecomte, 1998). Pour ce faire, il est nécessaire d'étudier les occurrences précédentes ou potentielles du danger et de déterminer le niveau de vulnérabilité de la zone concernée (Allison, 2012).

En général, les indicateurs biologiques du sol jouent un rôle important dans l'évaluation et la remédiation des dangers (Dawson *et al.*, 2007). D'après (Maila et Cloete, 2005) les indicateurs les plus utilisés pour les sols contaminés sont : la respiration microbienne exprimée par le dégagement de CO₂ (Bastida *et al.*, 2008), l'activité enzymatique liée elle-même à la MO et à l'activité microbienne (Knight et Dick, 2004) et la toxicité pour les vers de terre (Andreoni *et al.*, 2004 ; Alrumman *et al.*, 2015).

L'objectif du présent travail consiste à évaluer le risque présent dans le sol contaminé par les carburants dans un site pollué d'une station-service par la caractérisation du danger en se basant sur les propriétés de ces substances et sur leur utilisation, dans une démarche d'évaluation simplifiée du risque (ESR). Notre travail vise, aussi, à évaluer l'effet de la contamination du sol par les carburants sur ses propriétés biologiques en évaluant des paramètres faciles à mesurer (toxicité sur la macrofaune et le végétal, respirométrie, activité de la catalase), dans une démarche d'évaluation détaillée du risque (EDR).

Le présent mémoire se subdivise en trois chapitres. Le premier représente une synthèse bibliographique sur les hydrocarbures (leur nature, leur devenir et leurs impacts sur l'environnement), ainsi que les méthodes de l'évaluation du risque des sols pollués par les hydrocarbures (identification du danger, caractérisation de l'exposition, caractérisation des effets et caractérisation de risque).

Le second chapitre est consacré à la présentation de la station d'étude, les méthodes adoptées et de l'ensemble du matériel utilisé dans ce travail.

Le troisième chapitre consiste en la présentation des résultats obtenus concernant l'ESR et l'EDR, ainsi que leur discussion.

Ce travail se termine par une conclusion générale et quelques perspectives.

Chapitre I :
Synthèse
bibliographique

1. Pollution du sol par les hydrocarbures

La pollution par les hydrocarbures (pétrole, essence, gasoil, huiles pour les moteurs, etc.) est très importante. Elle intervient dans 80% des cas des pollutions du sol. Elle est majoritairement accidentelle ou d'origine industrielle, due à des rejets volontaires ou non de produits pétroliers. Elle relève à la fois de la pollution chimiques et de la pollution organique (Koller, 2004).

1.1. Généralités sur les hydrocarbures

Les hydrocarbures sont des composés organiques constitués uniquement d'atomes de carbone et d'hydrogène. Ils possèdent une formule brute du type C_nH_m . Ces composés naissent dans des conditions bien particulières. En effet, ils sont formés par la décomposition d'organismes enfouis et accumulés (Mathieu, 2008). Ils présentent une grande importance commerciale. Ils sont utilisés comme carburants, combustibles, huiles lubrifiantes et produits de base en synthèse pétrochimique (Fattal, 2008).

De par leur abondance naturelle, ils font partie des produits chimiques les plus importants pour l'humanité et sont notamment utilisés comme source d'énergie primaire (Gaudu, 2014).

1.2. Classification des hydrocarbures

Les pétroles bruts sont constitués de différentes familles de composés dont la composition chimique varie énormément selon leur origine géographique et géologique (Tissot et al., 1984).

1.2.1. Hydrocarbures aliphatiques

Ils sont constitués de chaînes carbonées linéaires qui peuvent être saturées ou posséder une ou plusieurs doubles ou triples liaisons (alcane, alcène, alcyne) (Milton, 2007).

1.2.2. Hydrocarbures cycliques

Ils peuvent être également saturés ou posséder une ou plusieurs doubles liaisons, on parle alors respectivement de cyclane et de cyclène. Cependant, la structure cyclique est incompatible avec les triples liaisons de fait de leur géométrie linéaire, à moins que la molécule ne contienne un minimum de 8 atomes de carbone (cyclyne) (Arnaud, 2004).

1.2.3. Hydrocarbures aromatiques

Ils ne comprennent que les hydrocarbures insaturés. Cette famille rassemble tous les composés reformant un ou plusieurs noyaux aromatiques (Redolf, 2007).

1.3. Sources de pollution du sol par les carburants dans une station-service

Les stations-service sont une source importante de pollution urbaine. L'exploitation de ce type d'activités représente une source potentielle de nuisances pour l'environnement en général. Mais la contamination des sols par les carburants constitue un des risques majeurs pour l'environnement (Pierdrafit, 2007).

Dans ce cas, l'origine de la pollution provient, soit de déversement d'hydrocarbures lors du remplissage des stockages de la station ou de la distribution des carburants, soit des fuites des cuves enterrées (Patej, 2002).

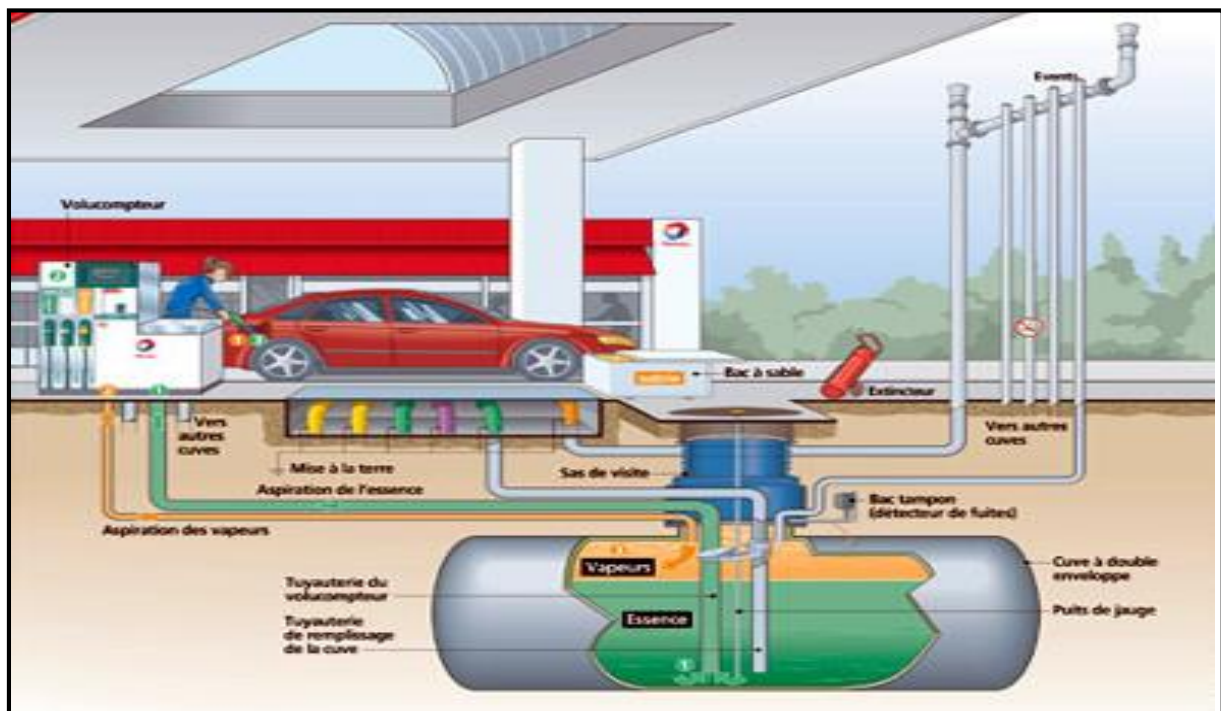


Figure1 : Sources de pollution du sol dans une station-service (Piedrafit, 2007).

1.4. Carburants

Les carburants, tels que l'essence et le gasoil, sont issus du raffinage du pétrole. Ils sont stockés et vendus dans les stations-service. Il s'agit de mélanges d'hydrocarbures pétroliers. (Muck, 2007).

1.4.1. Les essences

Les essences contiennent généralement environ 230 hydrocarbures différents, dont le nombre d'atomes de carbone se situe entre 4 et 10. La distillation des essences est effectuée à température comprise entre 30 à 35°C et 180 à 200°C. Les essences ont une densité moyenne de 0,72 à 0,77.

Les essences sont composées de 5 classes principales d'hydrocarbures : les n-alcanes, les iso-alcanes, les cyclo-alcanes, les alcènes et les aromatiques. Les aromatiques sont majoritairement présents (Saada *et al.*, 2005).

1.4.2. Les gasoils

Les gasoils contiennent 2000 à 4000 hydrocarbures différents, dont le nombre d'atomes de carbone varie entre 11 et 25. Les gazoles sont distillés à des températures comprises entre 180 et 380°C et ont une densité de 0,82 à 0,86.

Les gazoles sont donc, plus lourds que les essences et sont composés de produits moins volatils. Ils ne contiennent pas d'alcènes et sont constitués majoritairement de n-alcanes et de cyclo-alcanes (Saada *et al.*, 2005).

I.5. Devenir des hydrocarbures dans le sol

D'après Chalansonnet et Joyeux (2005), dès que les hydrocarbures se déversent dans le milieu terrestre, ils sont soumis à des processus d'altération et de modification de leurs propriétés physico-chimiques initiales. Les processus qui entraînent des changements physiques sont notamment l'évaporation, l'adsorption, la percolation, la dissolution et la sédimentation, ceux qui entraînent les modifications chimiques sont la dégradation abiotique et la biodégradation (Bergue et Merienne, 1986).

1.5.1. Volatilisation

C'est un processus qui débute immédiatement après le déversement des hydrocarbures et peut se poursuivre pendant quelques jours (Neff *et al.*, 2000). La volatilisation concerne les fractions de faible poids moléculaire (moins de 12 atomes de carbone) (Soltani, 2004).

1.5.2. Solubilisation

La solubilisation des hydrocarbures dans l'eau est très faible. Un hydrocarbure est d'autant plus soluble que sa masse moléculaire est faible et que sa polarité est élevée. Il est important de noter que les hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement, ils sont difficiles à éliminer et sont absorbés par la faune et la flore (Soltani, 2004).

1.4.3. Sorption

C'est la propriété de certains corps solides de pouvoir retenir les molécules d'autre corps (à l'état gazeux ou liquide) à leur surface, on distingue deux mécanismes de sorption : l'adsorption physique qui est due à des forces électrostatiques, et l'adsorption chimique qui met en jeu des liaisons chimiques entre le solide adsorbant (matière organique) et le fluide adsorbé (hydrocarbure) (Saada *et al.*, 2005).

1.5.2. Biodégradation

Selon Vogel (2001), la biodégradation est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement. La biodégradation des hydrocarbures se fait dans les milieux aérobies et anaérobies grâce à des microorganismes principalement des bactéries et /ou des champignons qui puisent dans le pétrole leur alimentation (Fattal, 2008).

1.6. Effets écotoxicologiques des hydrocarbures

La pollution par les hydrocarbures pose d'importants problèmes dans l'environnement vis-à-vis des microorganismes, des plantes, des animaux et de la santé humaine. En raison de leur caractère liposoluble, ils peuvent s'accumuler dans la faune et la flore et tout au long de la chaîne trophique (Ramade, 2007).

1.6.1. Effets sur le sol

Les hydrocarbures, s'ils sont imprégnés dans le sol en quantité limitées (moins de 2% de la couche 0 à 15cm), n'exercent pas d'action dépressive vis-à-vis des microorganismes du sol. Cependant, ils exercent une action nocive indirecte car ils enrichissent le sol en lipides hydrophobes et difficilement biodégradables (Jumbu, 1999 *in* Duchauffour, 2001). Selon (Chaineau *et al.*, 1997), la contamination du sol par les hydrocarbures induit une diminution de la teneur du sol en phosphore et une augmentation de la teneur en carbone organique total ainsi qu'une augmentation du pH du sol.

1.6.2. Effets sur la végétation

Les effets toxiques des hydrocarbures sur les végétaux sont très divers selon la famille et la concentration. L'effet phytotoxique des hydrocarbures a été observé à travers la diminution du taux de germination et du rendement, ainsi que les retards de croissance (Chaineau *et al.*, 1996 ; Henner *et al.*, 1999).

1.6.3. Effets sur la faune

Les sols contaminés par les HC présentent un danger lors du contact direct avec l'animal ou lors de leur transfert dans la chaîne alimentaire qui est un phénomène de bioaccumulation avec le piégeage par les végétaux et les animaux des polluants ou de leur produits de dégradation jusqu'à des teneurs atteignant les seuils de toxicité (Zhang *et al.*, 2010). Les effets écotoxiques de la pollution par les carburants se traduisent par des altérations biologiques tant aux niveaux moléculaires que populationnels. L'augmentation de l'activité des microbes anaérobies suite à un déversement des hydrocarbures (gasoil) augmente le stress pour les organismes vivants et les animaux du sol tels que les vers de terre (Andreoni *et al.*, 2004; Alrumman *et al.*, 2015).

II. Evaluation du risque des sols pollués aux hydrocarbures

L'évaluation des risques écologiques ou écotoxicologiques est utilisée systématiquement pour évaluer et organiser des données, des informations et des incertitudes qui permettent de comprendre et de prévoir les rapports entre les stressseurs et les effets écologiques de manière à faciliter la prise de décision environnementale (Lefranc, 2016).

II.1. Identification du danger

L'identification du danger est la première étape de l'évaluation du risque écologique. Ce processus vise à cerner les dangers susceptibles de toucher la zone visée par l'évaluation des risques. Pour y arriver, il faut étudier systématiquement tous les dangers et leurs causes afin de déterminer s'ils constituent une menace pour la région concernée. Les dangers peuvent survenir de différentes manières et entraîner des dommages en tout genre, d'où l'importance de connaître toutes les causes et vulnérabilité potentiellement responsables d'un danger et, ultimement, d'une situation d'urgence (Allison, 2012).

Selon la méthodologie générale développée par l'USEPA (1998), cette phase comporte trois principales étapes (Rivière, 1998 ; Boillot, 2008).

- La description détaillée du contexte et l'intégration des données disponibles : le but de cette étape est de clarifier le scénario étudié, c'est-à-dire d'identifier les sources d'émission des polluants, les scénarios d'exposition, les voies de transferts et les écosystèmes cibles, à partir des connaissances existantes (limites géographiques et temporelles, stressseurs, cibles, vecteurs potentiels...).

- La sélection des paramètres d'évaluation et l'élaboration du modèle conceptuel : il est question de sélectionner les éléments des écosystèmes cibles à protéger relativement au scénario.
- L'élaboration d'un plan d'analyse : cette étape insiste sur la nécessité de programmer l'évaluation et l'interprétation des données avant de débiter les analyses (Event, 2004).

II.2. Caractérisation de l'exposition

La caractérisation de l'exposition consiste à déterminer les probabilités de contact spatiotemporel entre les stressés (le facteur causal) et les « cibles » (récepteurs). Elle passe par l'analyse des sources, des transferts depuis ces sources, et de la distribution des stressés dans l'environnement (USEPA, 1998). Cette analyse peut être réalisée à l'aide de calculs théoriques ainsi que sur la base de résultats expérimentaux (Babut et Perrodin, 2001).

Cette phase aboutit à la détermination d'une (ou d'un ensemble de) valeur(s) de caractérisation de l'exposition correspondant à la concentration du (des) stressé(s) à laquelle les cibles sont exposées par voie de contact et par ingestion (Suter, 2006).

Dans le cadre d'une approche «substances», on parle de la PEC (Predicted Environmental Concentration), alors que pour une approche «matrice», on parle du pourcentage de la matrice dans le milieu. Dans les deux cas, il s'agit de la concentration que l'on s'attend à trouver dans le milieu suite aux différents apports (Donguy et Perrodin, 2007).

II.3. Caractérisation des effets

Le but de cette étape est de définir comment les organismes de l'écosystème cible sont significativement sensibles aux stressés auxquels ils sont exposés (Donguy et Perrodin, 2006). Selon Boillot (2008), elle aboutit à l'acquisition de différentes valeurs d'effets écotoxicologiques (NOEC, CE20, CE50 ...) qui permettent de calculer la valeur d'absence d'effet significatif vis-à-vis de l'écosystème cible appelée parfois CSE (Concentration Sans Effet). Indépendamment de l'approche adoptée pour la caractérisation des effets, le but principal de cette étape est de disposer des valeurs de PNEC (Previsible No Effect Concentration) pour chacun des traceurs de risque (si utilisation de l'approche « substances»). Dans le cas de l'approche « substances », une recherche dans les bases de données internationales (BDI) permet, normalement de trouver directement des valeurs de PNEC « pré-définies » (Boillot, 2008).

Lorsque pour certaines substances, les valeurs de PNEC « pré-définies » ne sont pas disponibles, il est possible d'estimer les valeurs de PNEC manquantes au moyen de méthodes d'extrapolation. Suivant l'abondance et la nature des données disponibles, au moins deux méthodes sont utilisées pour obtenir des valeurs de PNEC à partir des résultats d'essais monospécifiques (INERIS, 2003):

- La méthode utilisant des facteurs d'extrapolation, lorsqu'un nombre restreint de données est disponible.
- la méthode statistique, lorsqu'un grand nombre de données est disponible.

La méthode utilisant des facteurs d'extrapolation est celle qui est le plus souvent utilisée. Le principe d'utilisation du facteur d'extrapolation est basé sur la volonté de vouloir extrapoler les effets obtenus avec quelques espèces à tout un écosystème. Certaines incertitudes sont donc associées à cette démarche. Afin de tenir compte de ces incertitudes, on a élaboré des facteurs d'extrapolation, appelés également facteur de sécurité ou facteurs d'incertitude.

II.4. Caractérisation du risque

Durant cette phase de caractérisation du risque, on confronte le degré de présence du ou des stresser(s) et la gravité de leurs effets sur les organismes de l'écosystème cible. Pour estimer le risque, on peut utiliser des équations ou des modèles mathématiques. Les contraintes opérationnelles auxquelles l'évaluateur est confronté ou, sur les données dont il dispose, déterminent le choix du type de méthode.

Parmi ces méthodes, on utilise selon l'EPA(1998) et Angerville (2009)

- l'approche au moyen d'études *in situ*. Ces études peuvent être réalisées sous réserve, entre autres, d'établir un lien de causalité et seulement dans le cas d'une EDR rétrospective (INERIS, 2004).
- Les méthodes qualitatives sont utilisables pour des démarches comparatives. Elles caractérisent le risque en deux ou trois catégories, fort/faible/moyen, le plus souvent sur la base d'un jugement d'expert (Rivière, 1998).
- Les méthodes de comparaison permettent d'estimer le niveau de risque associé à un niveau d'exposition donné en intégrant l'ensemble des relations stresser(s)/réponses. Elles sont utilisées spécialement pour tester plusieurs possibilités de réduction des risques, ou lorsqu'il y a différentes concentrations d'exposition (en fonction du temps ou de la zone géographique) et/ou d'effet (chronique/aigu) (Solomon *et al.*, 1996)

- La méthode du quotient compare l'estimation de l'exposition au (x) polluant(s) à celle d'absence d'effets sur les écosystèmes cible et est éventuellement associée à une fourchette d'incertitude (Angerville, 2009).

L'une des méthodes les plus utilisées est la méthode du quotient qui, selon Rivière (1998), se base sur le même principe utilisé en évaluation des risques sanitaires, pour calculer les indices de risque (Hazard Index). Cette méthode aboutit au calcul d'un Indice de Risque (IR) pouvant être appliqué à différentes approches de caractérisation des effets. L'IR se calcule au moyen de l'équation suivante :

$$\text{IR} = \frac{\text{Valeur de caractérisation de l'exposition}}{\text{Valeur d'absence d'effet}}$$

En fonction des valeurs obtenues pour IR, on peut distinguer les cas où les milieux récepteurs sont :

- compatibles avec les usages constatés sans exposer les écosystèmes cibles à des niveaux de risques excessifs : le risque est dit « acceptable » lorsque $\text{IR} \leq 1$.
- incompatibles avec les usages constatés et que les écosystèmes cibles sont exposés à des niveaux de risques excessifs : le risque est dit « inacceptable » lorsque $\text{IR} > 1$ (Donguy et Perrodin, 2007).

Chapitre II :

Matériel et méthode

1. Matériels

1.1. Le sol

Le sol utilisé dans notre étude provient d'une station-service de Boukhalfa, située à 36° de latitude et à 4° de longitude, à 5 Km à l'ouest du chef-lieu de la commune de Tizi-Ouzou, sur la route nationale n°12, reliant Alger à Tizi-Ouzou (figure 2). Cette station a été choisie car elle se trouve à proximité de terres agricoles et d'un cours d'eau, ce qui représente un risque pour les consommateurs. Elle aussi retenue par sa capacité élevée de distribution des carburants et pour sa proximité.



Figure 2: Image satellite de la station-service de Boukhalfa (Google maps, 2021).

1.2. Matériel végétal

Afin d'évaluer la toxicité des hydrocarbures contenus dans le sol sur le végétal, le taux de germination des graines de maïs, la croissance de la plante ainsi que la biomasse aérienne et racinaire ont été étudiés.

Le maïs a pour nom scientifique *Zea mays L.* c'est une plante tropicale herbacée annuelle de la famille des Graminées (Poacées). Il appartient à la classe des Monocotylédones. Cette plante a été choisie en raison de sa bonne capacité de germination et c'est l'une des espèces les plus sensibles à la pollution par les hydrocarbures (Chaîneau *et al.*, 1997).

1.3. Faune du sol

Dans le but de l'évaluation de l'effet des hydrocarbures sur la macrofaune du sol, certaines espèces sont utilisées dans des tests d'écotoxicité. Le model biologique utilisé sont les vers de terre. Au cours de ce test, les paramètres étudiés sont la survie et le poids des vers de terres.

L'espèce utilisée est *Allolobophora rosea* de la famille des Lumbricidés. Le choix de cette espèce est justifié par son abondance dans le sol témoin que nous avons échantillonné.

1.4. Carburants (essence, gasoil)

Les carburants utilisés pour la contamination artificielle du sol sont fournis par la station-service de Boukhalfa.

1.4.1. Essence Super

Elle est utilisée pour l'alimentation des moteurs automobiles, c'est un carburant caractérisé par un indice d'octane très élevé par rapport à l'essence normale.

1.4.2. Essence sans plomb

C'est un combustible issu du raffinage du pétrole et exempté du plomb en raison de l'impact du plomb sur l'environnement et sur la santé publique.

1.4.3. Gasoil

Le gasoil et le diesel ne sont que deux noms différents pour un seul et unique produit. C'est un carburant issu du raffinage du pétrole. Il est destiné à l'alimentation des moteurs Diesel routiers et non routiers.

II. Méthodes

II.1. Méthode d'échantillonnage

Nous avons prélevé deux échantillons de sol au niveau de la couche superficielle (0-15 cm), où la population et l'activité microbienne sont plus importantes ; l'un est contaminé prélevé à proximité de la source de pollution sous l'ouverture des événements, l'autre non contaminé prélevé dans une parcelle qui n'est pas exposée à cette pollution.

II.2. Contamination du sol

Après échantillonnage sur le terrain, les sols ont été séchés et tamisés à travers un tamis à mailles de 5mm de diamètre pour l'homogénéiser. Le sol non contaminé est divisé ensuite en 5 lots, le premier a été contaminé par un mélange des trois carburants (essence super, essence sans plomb et gasoil) à 1%, le deuxième a été contaminé à 2%, le troisième contaminé à 3%, le quatrième à 4%, et le cinquième lot n'a pas été contaminé 0% et sert de témoin.

II.3. Evaluation simplifié du risque écologique

Le protocole de l'évaluation simplifiée du risque(ESR) a été inspiré de la méthodologie d'évaluation simplifié du risque chimique élaborée par (l'INRS ,2005).

Le but de l'ESR est de fournir les éléments nécessaires pour classer les sites, à partir des éléments fournis par l'étude des sols, selon les actions à envisager. La classe 1est constituée des sites nécessitant des investigations approfondies et une évaluation détaillée des risques (EDR). La classe 2 est constituée des sites à surveiller par l'intermédiaire de mesures spécifiques appropriées à la problématique du site étudié. Enfin, la classe 3 est constituée des sites banalisables pouvant être destinés à un usage précis donné, sans travaux préalables.

La méthode utilisée pour l'ESR utilise un système de scores attribués aux produits chimiques polluants selon leurs propriétés intrinsèques, les quantités utilisée et les fréquences de leur utilisation. Des classes sont établies par catégories de scores.

II.3.1. Classes de quantité

La détermination des classes de quantité (tableau I) s'effectue sur la base des référentiels temporels utilisés, en prenant la quantité consommée (Q_i) du carburant considéré rapportée à la quantité de carburant le plus consommé (Q_{max}). Les classes sont calculées comme suit : $CQ = Q_i / Q_{max} * 100$.

Tableau I : Classes de quantité.

Classe de quantité	Q_i / Q_{max}
1	< 1%
2	Entre 1% et 5%
3	Entre 5% et 12%
4	Entre 12% et 33%
5	Entre 33% et 100%

II.3.2. Classe de fréquence d'utilisation

C'est la détermination référentielle temporelle de consommation approprié quotidienne, hebdomadaire, annuelle, les classes sont déterminées comme indiqué dans le (tableau II).

Tableau II : Classes de fréquence d'utilisation.

Utilisation	occasionnelle	intermittente	fréquente	permanente
jour	< 30 minutes	>30 -120 min	2-6 heures	> 6 heures
semaine	< 2 heures	2 - 8 heures	1-3 jours	> 3jours
mois	< 1 jour	1-6 jours	6-15 jours	> 15 jours
année	< 15 jours	15jours-2mois	2-5 mois	>5mois
	1	2	3	4
0 :	L'agent chimique n'a pas été utilisé depuis au moins un an, l'agent chimique n'est plus utilisé.			

II.3.4. Classes d'exposition potentielle

Elle résulte de la combinaison des classes de quantité et des classes de fréquence d'utilisation. Plus la quantité et la fréquence d'utilisation sont élevées, plus la probabilité d'exposition est importante. Les classes d'exposition potentielle sont déterminées par le (tableau III).

Tableau III : Classes d'exposition potentielle.

Classe de quantité						
5	0	4	5	5	5	
4	0	3	4	4	5	
3	0	3	3	3	4	
2	0	2	2	2	2	
1	0	1	1	1	1	
	0	1	2	3	4	Classe de fréquence

II.3.5. Score du risque potentiel

Il traduit la probabilité d'observer un risque, compte tenu des conditions générales d'utilisation (quantité, fréquence d'exposition) d'un carburant. La détermination du risque potentiel (tableau IV) résulte de la combinaison des classes de danger et des classes d'exposition potentielle.

Il est calculé par la formule: $R = 3^{E-1} \times 10^{D-1}$

E= classe d'exposition potentielle

D= classe de danger

Les 5 catégories de danger :

- Catégorie 1: parcelles potentiellement polluées.
- Catégorie 2: parcelles non polluées.
- Catégorie 3: parcelles légèrement polluées sans risque.
- Catégorie 4: parcelles polluées sans risques.
- Catégorie 5: parcelles polluées en cours d'étude ou de traitement.

Tableau IV : Classes de risque potentiel.

Classe d'exposition potentielle						
5	100	1000	10000	100000	1000000	
4	30	300	3000	30000	300000	
3	10	100	1000	10000	10000	
2	3	30	300	3000	30000	
1	1	10	100	1000	10000	
	1	2	3	4	5	Classe de danger

II.3.6. Priorités de risque potentiel en fonction du score

Le score du risque potentiel donné par le (tableau IV) permet de situer le niveau de gravité du risque obtenu (tableau V).

Tableau V: Caractérisation des priorités en fonction du score de risque potentiel.

Caractérisation des priorités en fonction du score de risque potentiel par produit	
Score HRP/ produit	Priorité
> 10000	Forte
100- 10000	Moyenne
<100	Faible

II.4. Evaluation détaillée du risque écologique du site pollué aux carburants

L'évaluation détaillée des risques liés aux sites pollués par les hydrocarbures est une vérification en vue d'apprécier un impact éventuel sur l'environnement, pour apporter un critère important à la nécessité de mesure de réhabilitation voire de dépollution.

II.4.1. Tests d'écotoxicité

Ils sont réalisés avec le sol pollué avec le mélange de carburants à différentes concentrations et avec le sol pollué prélevé près des événements dans la station.

II.4.1.1. Taux de germination

Ce test consiste à exposer les graines du maïs à des doses croissantes du mélange des trois carburants, dans des proportions similaires aux proportions distribuées par la station, afin d'évaluer les effets sur le taux de germination et la biomasse végétale (biomasse aérienne et racinaire) des plants du maïs.

Un bio-essai est réalisé en parallèle pour mesurer les mêmes paramètres mais dans le sol pollué prélevé près de la source de pollution dans la station-service.

Le semis des graines a été réalisé dans des boîtes de Pétri qui contiennent chacune 100 g de chaque sol et a reçu 5 graines du maïs. Les boîtes sont exposées à une photopériode de 10 jours. Tous ces échantillons ont été arrosés régulièrement. L'essai est réalisé avec trois répétitions pour chaque sol. Les graines germées ont été dénombrées et le taux de germination (TG) est calculé comme suit :

$$TG(\%) = (\text{nombre de graines germées} / \text{nombre des graines semées}) * 100$$

II.4.1.2. Biomasse aérienne

Après germination des graines, la plantule la plus robuste de chaque boîte de Pétri a été transplantée dans un pot en plastique qui contient 200g de sol surmontant une couche de sable qui va assurer le drainage. Le fond des pots a été perforé au préalable. Un arrosage quotidien a été effectué. Après 30 jours, les plantes sont récoltées et la partie aérienne est séparée de la partie racinaire au niveau du collet. Les parties aériennes des plantes de chaque sol a été séchée à l'air libre puis pesée.

II.4.1.3. Biomasse racinaire

Elle se mesure en pesant la partie racinaire des plantes de chaque sol, à l'état sec. La partie racinaire a été séparée, au préalable, de la partie aérienne, nettoyée et séchée à l'air libre.

II.4.1.4. Test de toxicité aigüe sur les vers de terre

Le protocole du test de toxicité aigüe a été inspiré de la ligne directrice pour les essais de produits chimiques, élaborée par l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE), de la méthode SPE 1/RM/43 d'Environnement Canada (OCDE, 1982; Environnement Canada, 2004) et de la norme (ISO 11268-1, 1993).

Il s'agit d'un essai de toxicité du sol d'une durée de 14 jours, dans lequel l'effet biologique mesuré est le nombre de vers vivants ainsi que la biomasse dans chaque enceinte expérimentale après des durées de 24, 48, 72 heures et 14 jours.

Cette méthode d'essai biologique consiste à exposer les vers de terre adultes de l'espèce *Allolobophora rosea* ayant le même poids ($5 \pm 0,1g$) à des doses croissantes du mélange de carburants, allant de 0 à 4%. Les vers, au nombre de cinq, sont mis dans des pots en plastique contenant 100g de sol. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque concentration. Les pots sont recouverts d'un couvert en plastique perforé afin d'assurer une bonne aération (figure 3).

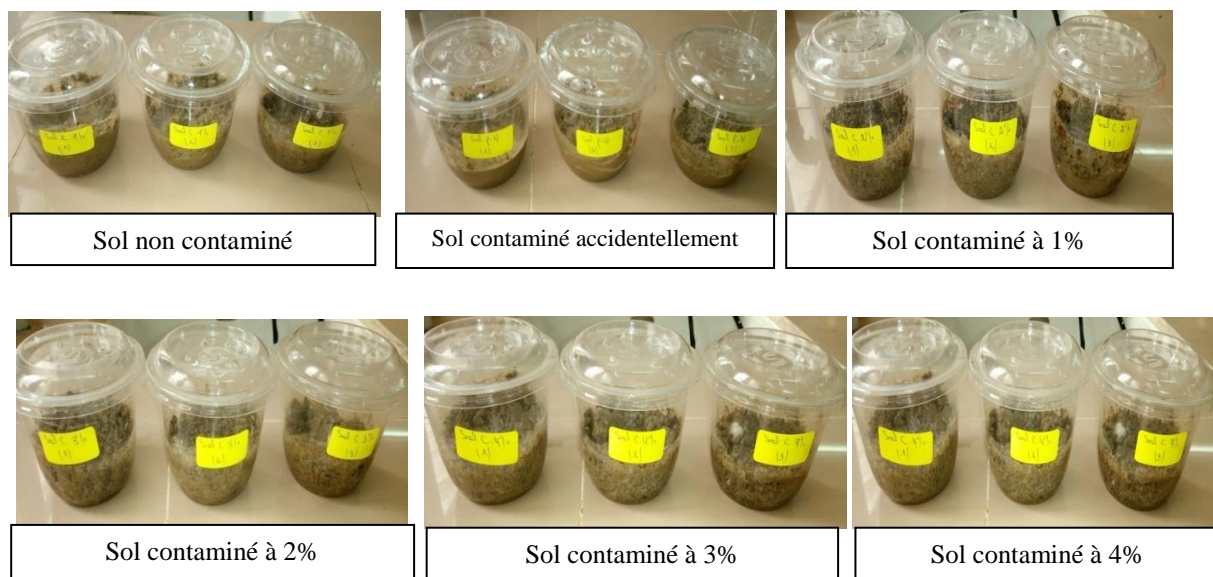


Figure 3 : Dispositif expérimental du test de toxicité aigüe sur les vers de terre (Original, 2021).

II.4.2. Mesure de l'activité biologique du sol

II.4.2.1. Respiration microbienne

La méthode de mesure de l'activité biologique globale a été décrite par (Dommerges, 1968). Elle a été évaluée par le test respirométrique.

Dans des flacons de 250 ml, bien fermés, contenant 50g de chaque sol, 02 tubes à hémolyse ont été placés ; l'un contenant 3ml d'eau pour éviter le dessèchement du sol et l'autre 5ml de NaOH à 0,5N pour fixer le CO₂ dégagé par les microorganismes. Pour chaque sol, 3 répétitions ont été réalisées. Les sols ont été ensuite incubés pendant 7 jours à 28°C.

Après incubation, le NaOH contenu dans les tubes est titré par l'acide sulfurique dilué H₂SO₄ à 0,25N en présence de phénophtaléine. La fin de la titration est marquée par la disparition de la couleur rose violacé (Figure 4).

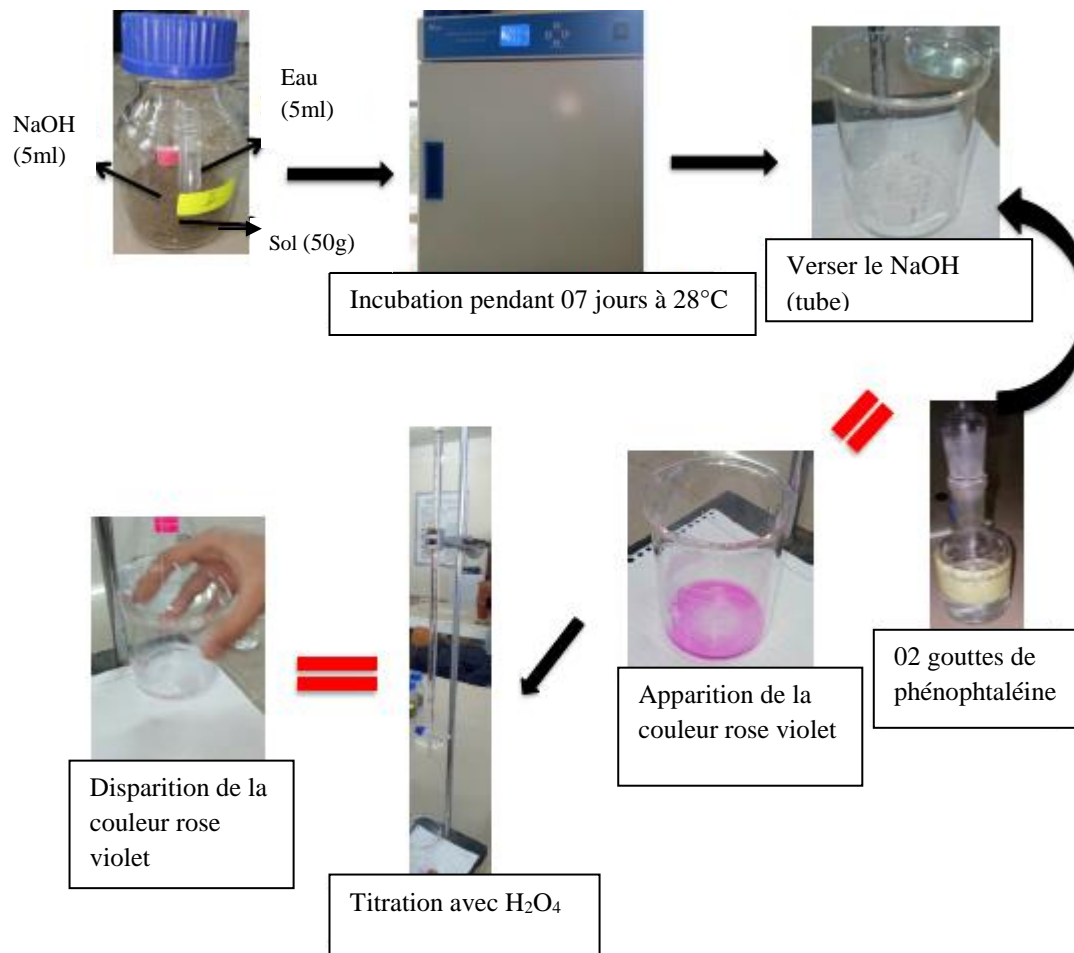


Figure 4: Protocole de mesure de la respiration microbienne du sol (Makhloufi et Metmer, 2018).

II.4.2.2. L'activité de la catalase (CAT)

Cette activité a été mesurée selon la méthode décrite par (Guan, 1986).

Ajouter 1,25ml de H_2O_2 à 0,3% et 20 ml de tampon phosphate pH 7 à un échantillon de sol 2,5g et le mélange réactionnel a été incubé à 25 °C pendant 20 min. 1,25ml d'une solution de H_2SO_4 à 3,0 mol/L ont été ajoutés à la solution pour arrêter la réaction. Le mélange a été filtré en le faisant passer à travers un papier filtre. 15 ml du filtrat ont été titrés par une solution de $KMnO_4$ à 0,02 mol/L (figure 4).

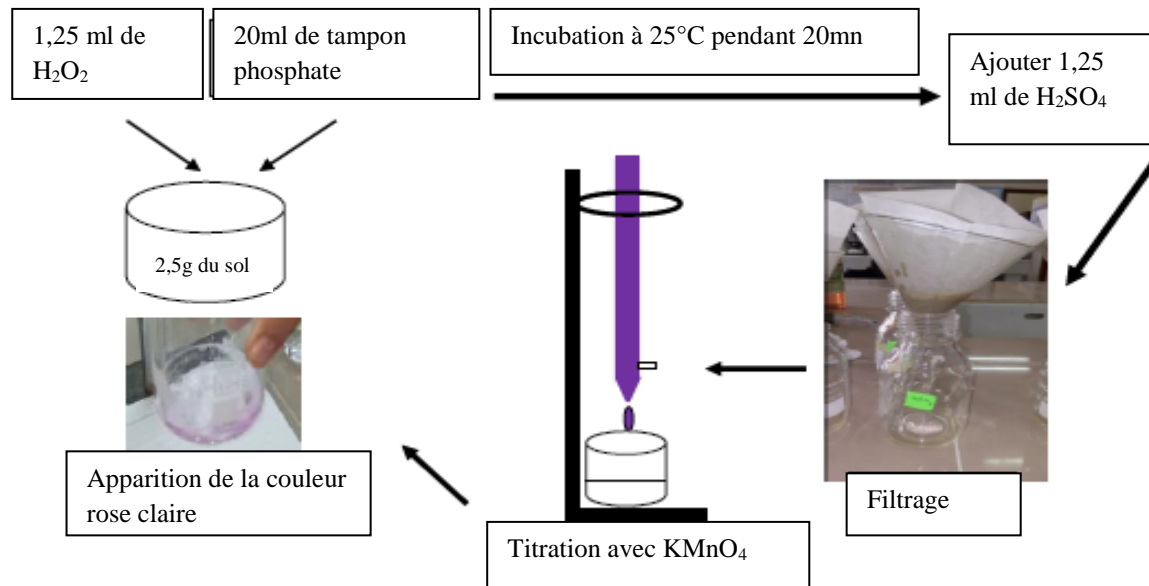


Figure 5 : Protocole de dosage de l'activité de la catalase (Makhloufi et Metmer, 2018).

II.4.3. Réalisation des bio-essais

Les tests décrits précédemment (germination et élongation racinaire du maïs, toxicité sur les vers de terre, respirométrie et activité de la catalase) ont tous été réalisés avec les mêmes protocoles sur le sol pollué aux carburants prélevé près des événements dans la station-service.

II.5. Méthodes d'analyse statistique

L'analyse statistique des résultats obtenus à été effectuée à l'aide de logiciel R.3.0.2. Les résultats sont soumis à une analyse de la variance à un facteur, suivi du test de Newman et Keuls qui permet la détermination des groupes homogènes.

Chapitre III :

Résultats et

discussion

1. Résultats

L'évaluation du risque écologique des sites pollués aux hydrocarbures est utilisée systématiquement pour évaluer et organiser des données, des informations et des incertitudes permettant de comprendre et de prévoir les rapports entre les sols pollués aux hydrocarbures et les effets écologiques de manière à faciliter la prise de décision.

1.1. Estimation du danger des sols pollués aux hydrocarbures par l'ESR

L'évaluation des risques consiste ensuite à déterminer les classes de quantité, les classes de fréquence d'utilisation, et les classes d'exposition potentielle. Ensuite la combinaison des valeurs des classes de chaque paramètre permet de calculer le score de risque potentiel.

1.1.1. Détermination des classes de quantité

a. Gasoil

$$Q_i = 30000$$

$$Q_{\max} = 60000$$

$$(30000/60000) \times 100 = 50\% \text{ compris entre 33 et 100\%}$$

Donc, la classe de quantité pour le gasoil est la classe 5

b. Essence super

$$Q_i = 3500$$

$$Q_{\max} = 7000$$

$$(3500 / 7000) \times 100 = 50\% \text{ compris entre 33 et 100\%}$$

Donc, la classe de quantité pour l'essence super est la classe 5

c. Essence sans plomb

$$Q_i = 8000$$

$$Q_{\max} = 13000$$

$$(8000 / 13000) \times 100 = 61,53\% \text{ compris entre 33 et 100\%}$$

Donc, la classe de quantité pour l'essence sans plomb est la classe 5

1.1.2. Détermination des classes de fréquence d'utilisation

Les trois carburants sont distribués chaque jour, 24h/24h. Ainsi, leur utilisation est permanente. Donc ils appartiennent tous les trois à la classe 4 de fréquence d'utilisation.

1.1.3. Détermination des classes d'exposition potentielle

En combinant les classes de quantité, et les classes de fréquence d'utilisation, on peut déterminer les classes d'exposition potentielle.

Les carburants sont dans la classe 5 de quantité et dans la classe 4 de fréquence d'utilisation. En utilisant la matrice de combinaison (tableau IV), les trois carburants se retrouvent dans la classe 5 d'exposition potentielle.

1.1.4. Détermination du risque potentiel

Le risque potentiel est calculé à l'aide de la formule suivante : $R = 3^{E-1} * 10^{D-1}$

R : risque potentiel

E : exposition potentiel

D : danger

Les carburants, selon leurs propriétés intrinsèques, sont classés dans la classe 4 de danger et dans la classe 5 d'exposition potentielle. Par combinaison de ces deux classes, la valeur du risque potentiel est calculée.

$$R = 3^{5-1} * 10^{4-1}$$

$$R = 100000$$

R est supérieur à 10000. Donc, selon le (tableau VI), ce site a une forte priorité avec un risque potentiel très élevé.

L'ESR révèle donc un risque élevé, d'où la nécessité de faire une EDR afin d'approfondir et d'affiner l'analyse.

1.2. Evaluation détaillée du risque du site pollué aux carburants

Elle se base sur les essais d'écotoxicité réalisés sur différentes espèces animales ou végétales ainsi que sur le sol lui-même.

1.2.1. Effets des hydrocarbures sur le végétal

Pour l'évaluation de la phytotoxicité des carburants, nous avons calculé le taux de germination des graines de maïs qui est un indicateur fiable de la qualité biologique du sol plus de la biomasse végétale, qui renseigne sur la croissance des plantes.

1.2.1.1. Taux de germination

La germination du maïs est différente d'un sol à un autre (figure 6), le taux le plus élevé étant obtenu dans le sol non contaminé (93,33%), suivi par celui enregistré dans sol contaminé du site (66,66%). Le taux de germination diminue lorsque la concentration des

carburants augmente. Ainsi, le taux de germination le plus faible (20%) a été enregistré dans le sol contaminé à 4%.

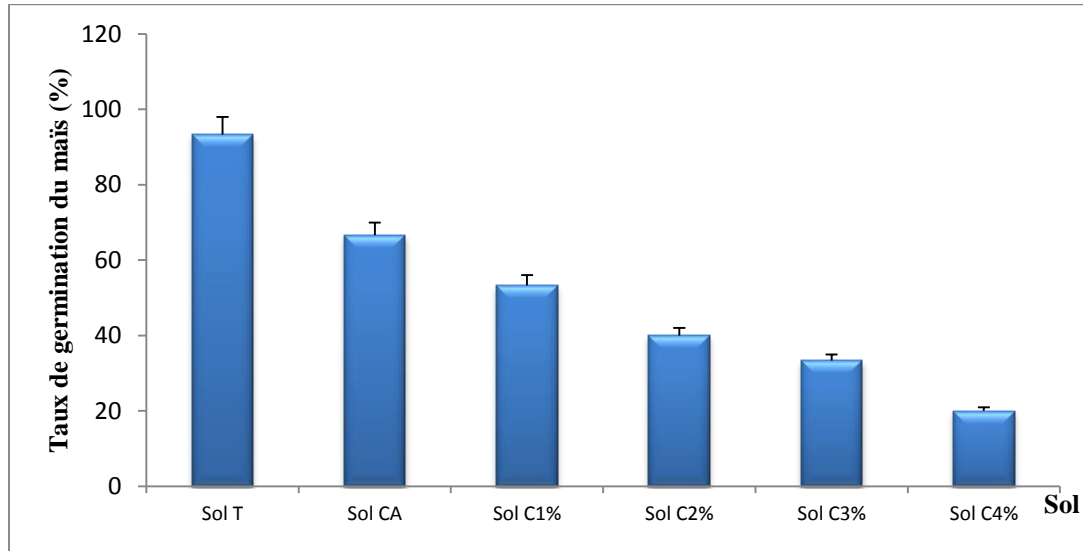


Figure 6: Taux de germination des graines du maïs dans les différents sols.

L'anova (Annexe II), a révélé un effet très hautement significatif de la contamination du sol sur le taux de germination du maïs ($p\text{-value}=4,67e-04$).

Le test Newman et Keuls a classé les moyennes dans trois groupes homogènes, le groupe « b » contient les sols CA (contaminé accidentellement) et 1%, le groupe « c » contient sol contaminé a 2 et 3%, le sol contaminé a 4% classé dans le groupe « d » et le groupe « a » contient le sol non contaminé.

I.2.1.2. Biomasse aérienne

(La figure 7) illustre les résultats de mesure de la biomasse aérienne des plants de maïs dans les différents sols. D'après les résultats obtenus, nous avons constaté une diminution de la biomasse aérienne du maïs avec l'augmentation de la concentration des carburants. La biomasse la plus élevée a été enregistrée dans le sol non contaminé, suivi du sol contaminé accidentellement dans la station-service.

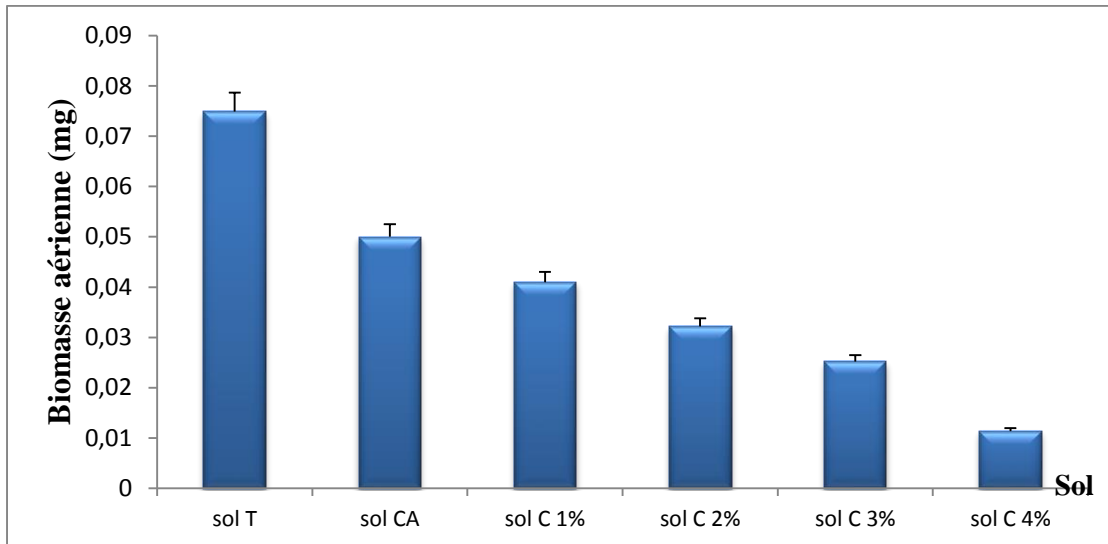


Figure 7: Biomasse aérienne du maïs dans les sols contaminé.

L'anova (AnnexeIV), a révélé un effet significatif des différents sols sur la biomasse aérienne du maïs ($p\text{-value}=3,98e\text{-}02$).

Le test Newman et Keuls a classé les moyennes dans trois groupes homogènes, le groupe « b » contient les sols CA (contaminé accidentellement) et 1%, le groupe « c » contient sol contaminé a 2 et 3%, le groupe « a » qui contient le sol non contaminé et sol contaminé a 4% classé dans le groupe « d ».

I.2.1.3. Biomasse racinaire

(La figure 8) illustre les résultats de mesure de la biomasse racinaire des plants de maïs dans les sols contaminés par les carburants à différentes concentrations, le sol non contaminé et le sol contaminé accidentellement dans la station.

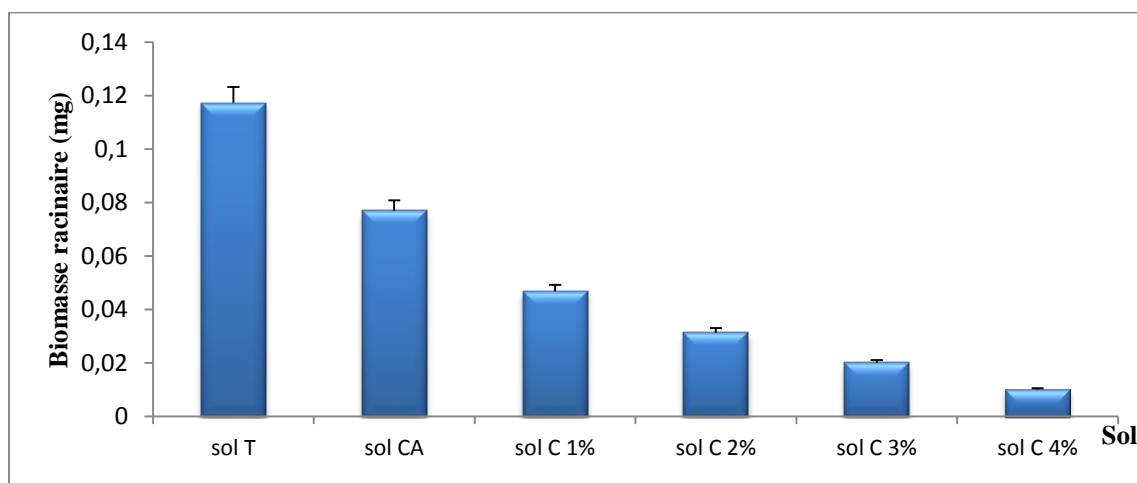


Figure 8: Biomasse racinaire du maïs dans les sols contaminé.

L'anova (Annexe VI), a révélé un effet significatif de la contamination du sol sur la biomasse racinaire ($p\text{-value}=5,12e-02$), cela signifie que les carburants ont un effet négatif sur la croissance des racines de cette espèce.

Le test de Newman et Keuls a fait ressortir trois groupes homogènes, le groupe « b » contient le sol contaminé accidentellement et celui contaminé à 1%, le groupe « c » contient le sol contaminé à 3%, et le groupe « c » qui contient celui contaminé à 4%, et sol non contaminé classé dans le groupe « a ».

I.2.2. Effes des carburants sur les vers de terre

I.2.2.1. Taux de survie

Les résultats concernant les taux de survie pour l'ensemble des vers de terre, sont représentés dans le (tableau VI).

Tableau VI: Effet des carburants sur la survie des vers de terre de l'espèce *Alollobophora rosea*.

Temps d'exposition Sol	T=0		24h		48h		72h		14 Jours	
	n	Fc	n	Fc	n	Fc	n	Fc	n	Fc
Sol T	15	100%	15	100%	15	100%	15	100%	15	100%
Sol CA	15	100%	10	66,66	6	40	4	26,66	0	0
Sol C1%	15	100%	6	40	4	26,66	2	13,33	0	0
Sol C2%	15	100%	4	26,66	2	13,33	1	6,66	0	0
Sol C3%	15	100%	2	13,33	1	6,66	0	0	0	0
Sol C4%	15	100%	1	6,66	0	0	0	0	0	0

n : nombre d'individus vivants

Fc : fréquence centésimale des vers de terre survivants

Après 24h d'exposition, des effets très importants sont enregistrés pour toutes les concentrations 4, 3 et 2%, sont respectivement de l'ordre de 6,66%, 13,33%, 26,66. Les taux de mortalité des vers de terre augmentent en fonction du temps et des doses, on remarque que le taux de mortalité atteint les 100 %, après 14 jours d'exposition pour tous les sols contaminés.

L'anova (Annexe VIII) a révélé un effet très hautement significatif de la contamination sur le taux de survie des vers de terre ($p\text{-value}=9,78e-04$).

Le test Newman et Keuls a fait ressortir trois groupes homogènes, le groupe « c » contient les concentrations 2 et 3%, le groupe « b » contient les concentrations CA (contaminé accidentellement), 1%, le groupe « d » contient la concentration 4% et le groupe « a » contient le sol non contaminé.

I.2.2.2. Biomasse des vers de terre de l'espèce *Allobophora rosea*

Les résultats de la biomasse des vers de terre sont représentés dans la (figure 9). D'après les résultats obtenus, on constate une baisse dans le poids des vers de terre. Après 24h d'exposition, un effet dépressif très important a été observé pour toutes les concentrations. Après 14 jours d'exposition, la biomasse est nulle car tous les vers sont morts sauf dans le sol non contaminé.

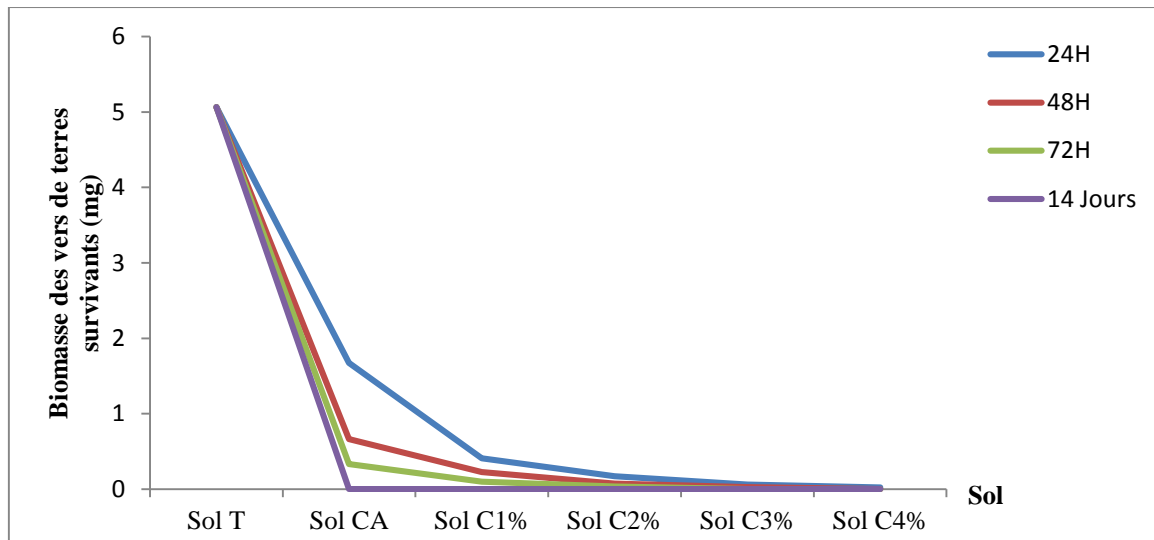


Figure 9: Biomasse des vers de terre de l'espèce *Allobophora rosea* dans les différents sols pendant 14 jours d'exposition.

L'anova (Annexe X), a révélé un effet hautement significatif de la contamination du sol sur la biomasse des vers de terre ($p\text{-value}=2,34e-03$). Après 14 jours de l'exposition on constate le changement dans la morphologie des vers de terres ainsi que leurs décompositions dans tous les sols contaminée.

Le test de Newman et Keuls a classé les moyennes dans deux groupes homogènes, le groupe « b » qui contient le sol contaminé accidentellement. Les concentrations 1, 2, 3 et 4% sont classées dans le groupe « c », et le sol non contaminé classé dans le groupe « a ».

I.2.3. Effets des hydrocarbures sur les paramètres biologiques du sol

I.2.3.1. Respiration microbienne

Les résultats du test respirométrique, exprimés en quantité de CO₂ dégagé par la respiration des microorganismes, dans les différents sols sont représentés par la (figure 10).

Une grande variation a été observée pour la quantité de CO₂ dégagée, dans les différents sols. La respiration des microorganismes est plus intense lorsque la concentration des carburants est plus élevée. La quantité la plus faible a été enregistrée dans le sol témoin puis dans le sol contaminé accidentellement.

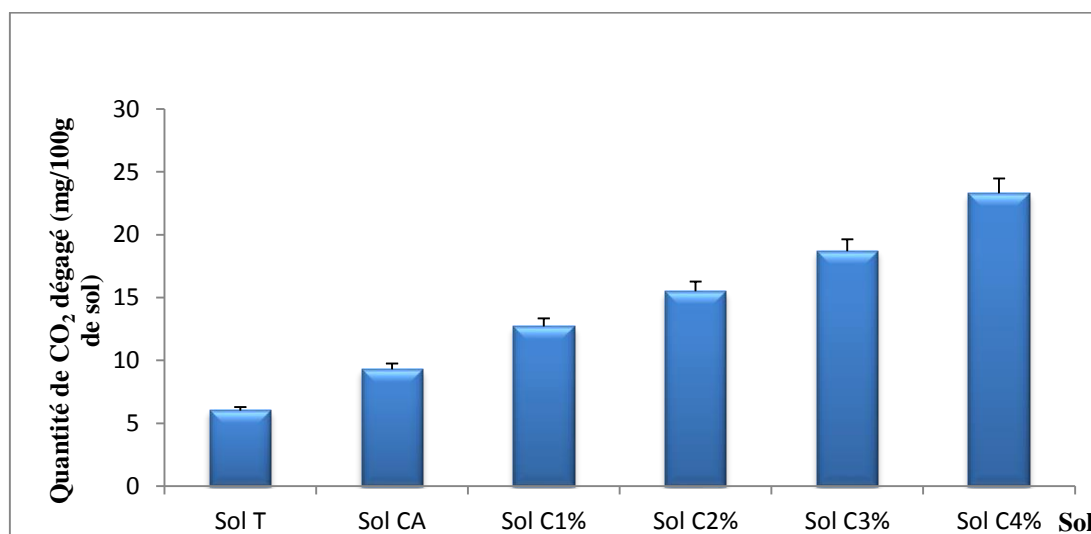


Figure 10 : Biomasse microbienne dans les différents sols.

L'anova à un facteur (Annexe XII) a fait ressortir un effet très hautement significatif du traitement sur la biomasse microbienne ($p\text{-value}=7,982e-04$).

D'après le test Newman et Keuls (Annexe VI) les sols sont classés dans trois groupes homogènes. Le groupe « d » contient les concentrations 3 et 4%, le groupe « c » contient les concentrations 1 et 2% et le groupe « b » contient la concentration CA (contaminée accidentellement), le sol non contaminée est classée dans le groupe « a ».

I.2.3.2. Activité de catalase

La transformation du peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau peut être favorisée par la CAT. La (figure 11) représente l'activité de catalase dans les différents sols, exprimée par la quantité de H₂O₂ (en moles) ayant été transformée.

D'après les résultats de la (figure 11), nous n'avons observé que les valeurs de l'activité de la catalase ont été proches les unes des autres.

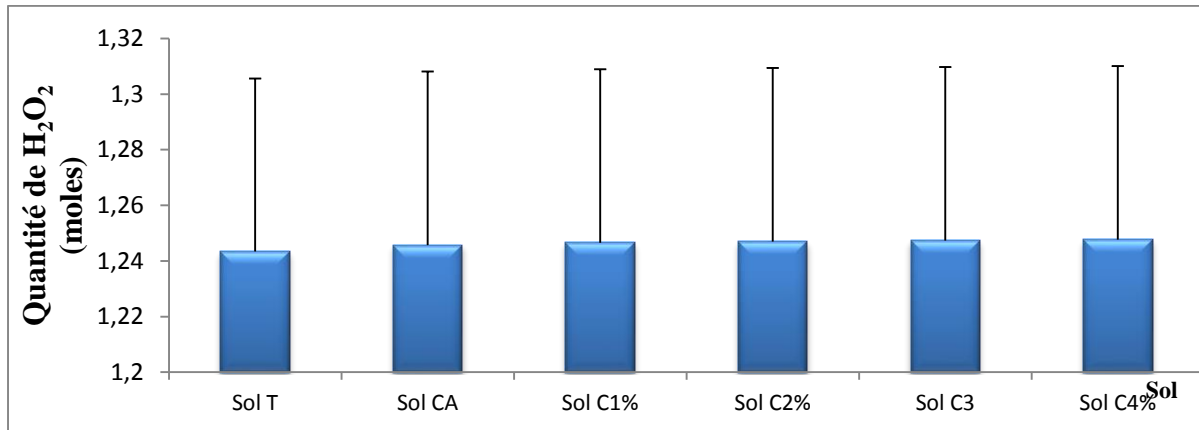


Figure 11 : Activité de la catalase dans les différents sols.

L'anova à un facteur (Annexe XIV) a révélé qu'il n'y avait pas de différence significative entre les sols (p-value= 0,4154).

II. Discussion

D'après les résultats de l'évaluation simplifiée du risque, les carburants qui se trouvent dans le sol étudié présentent un fort risque potentiel notamment à cause de la nature des carburants qui, en plus du risque de pollution, présentent un risque d'explosion et de la fréquence d'utilisation et à la grande quantité distribuée de carburants. Les quantités distribuées dans cette station arrivent parfois jusqu'à trois camions de 20 mille litres de gasoil et de 7 mille litres d'essence super par jour, ce qui augmente le risque de contamination.

L'évaluation détaillée du risque a montré que le risque dans le site pollué n'est pas aussi important que dans les sols contaminés artificiellement avec le mélange gasoil-essence super-essence sans plomb à des niveaux de contamination allant de 1 à 4% pour le taux de germination et la biomasse du maïs, mais que la toxicité a été très élevée sur les vers de terre. Plus la concentration en carburants est élevée, plus le taux de germination des graines de maïs et la biomasse végétale sont faibles. (Udo et Fayemi, 1995) in Chaineau *et al.*, 1997) notent que les hydrocarbures peuvent entrer dans les graines, empêcher les réactions métaboliques et tuer l'embryon par une toxicité aiguë directe, Il y'a également une forte évidence que l'inhibition de la germination soit corrélée à l'hydrophobie des hydrocarbures qui empêche et/ou réduit les échanges d'eau et de gaz surtout l'oxygène. (Bergue, 1986) a signalé que les effets des hydrocarbures sur la flore dépendent aussi de l'espèce végétale et du stade physiologique de la végétation.

(Chaineau *et al.*, 1997) ont associé la réduction de la croissance des plantes lors d'une contamination du sol par les hydrocarbures, au déficit alimentaire causée par les hydrocarbures. Ils ont montré également que la concentration du pétrole brut a un effet sur la physiologie du végétal.

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

Selon (Njoku *et al.*, 2009), la pollution du sol par le pétrole brut entraîne une faible perméabilité et une faible infiltration de l'eau dans le sol, ce qui affecte le développement des feuilles.

L'effet toxique des hydrocarbures sur la biomasse végétale (aérienne et racinaire) s'exprime par un retard significatif de la croissance (diminution de la taille des plants, de leurs feuilles et de leurs racines), cette diminution se traduit par la réduction du poids sec (Chaineau *et al.*, 1997).

(Morot, 1997) a noté que la nutrition azotée limitait généralement la croissance, le développement et le rendement végétal. Cette réduction de la biomasse végétale due aux changements des propriétés de sol (changement de la teneur en humidité, du pH, ...) qui est la source d'une grande partie des éléments nécessaires au développement des végétaux, le changement de ses propriétés influence la croissance végétale. Selon (Norini, (2007), la diminution de la biomasse racinaire peut être due aux propriétés hydrophobes des hydrocarbures qui peuvent limiter l'effet bénéfique de l'association plante micro-organismes. Cette atteinte de la racine ne permet pas à la plante d'augmenter sa surface de contact avec le milieu pour optimiser la nutrition minérale.

D'après (Njoku *et al.*, 2009), la diminution de la croissance des racines peut être due à la diminution de leur pénétration dans le sol causé par les hydrocarbures ainsi l'inhibition de l'absorption des matériaux organiques.

La qualité biologique du sol reflète l'état et la santé des racines. Un grand nombre de résultats sont disponibles dans la littérature sur l'utilisation des tests sur les microorganismes ainsi que les enzymes en tant que bioindicateurs de la présence des hydrocarbures. Ce sont des outils faciles et fiables pour détecter et mesurer la concentration des polluants avant, pendant et après le processus de restauration (Rao *et al.*, 2015).

Les résultats du test de toxicité aigüe à montré la diminution de la survie des vers de terre dans les sols contaminés par les hydrocarbures ainsi que la perte significative dans leurs biomasse dans tous les sols contaminés artificiellement ou accidentellement. Ces résultats concordent avec ceux de (Vasseur et al., 2008) qui ont signalé la toxicité des hydrocarbures induisant la mort des vers de terre.

(Spurgeon *et al.*, 1994) et Sverdrup *et al.*, 2002), ont montré une inhibition de la survie et de la reproduction des vers de terre exposés à des sols polluée en HAP.

(Lors *et al.*, 2005) et Lors *et al.*, 2009), ont étudié l'écotoxicité de sols contaminés par des HAP, et ont déduit qu'ils étaient trop toxiques vis-à-vis des organismes terrestres en particulier les vers de terre.

Les carburants aussi ont un impact négatif sur le poids des vers de terre. D'après (Bangbose *et al.*, 2020), l'exposition des vers de terre au diesel a causé plus de perte de poids, d'enroulement postérieur et fragmentation antérieure et écoulement excessif de fluide cœlomique.

La mortalité et la perte de poids des vers de terre ont aussi été observés dans un sol contaminé aux carburants par (Hawrot-Paw *et al.*, 2020).

D'après les résultats du test respirométrique, la quantité de CO₂ dégagée dans les sols l'adaptation des microorganismes à ces polluants.

Plusieurs études confirment qu'une contamination par le gasoil provoque une augmentation significative des paramètres biologiques du sol, tels que la biomasse microbienne, la respiration microbienne ainsi que l'activité enzymatique grâce à la prolifération des microorganisme résistants (Margesin *et al.*, 2000 ; Tejada *et al.*, 2008).

Nos résultats concernant l'activité biologique du sol concordent avec ceux obtenus par (Dommergues et Mangenot, 1970), (Chaineau *et al.*, 1996 et Duchauffour, 2001). Ces auteur ont trouvé une grande diversité de bactéries et de champignons qui peut s'adapter à de nouvelles conditions telle que la pollution par les hydrocarbures car ceux-ci deviennent, à leur tour une nouvelle source de carbone dans le sol. Ces microorganismes doivent développer un certain nombre d'adaptations pour pouvoir utiliser de tels substrats.

Nos résultats concernant la production de CO₂ peut être expliqués par la solubilité des hydrocarbures qui est éventuellement le facteur clef influençant leur biodisponibilité, d'où une plus grande production de CO₂ qui augmente avec l'augmentation des dose des hydrocarbures dans le sol. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par (Maliszewska-Kordybach et Smreczak 2003) qui ont constaté que la respiration microbienne est plutôt stimulée par la présence des carburants. Cette stimulation peut s'expliquer, selon (Labud *et*

al., 2007), par la résistance de certains microorganismes, responsables de la dégradation des hydrocarbures, ou bien à la minéralisation de cellules microbiennes n'ayant pas survécu à la contamination.

D'après les résultats obtenus, seule l'activité enzymatique de la catalase n'a pas été affectée par la présence des carburants. Cette enzyme ne semble pas être stimulée par la présence des carburants. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Mohsenzadeh *et al.*, 2012) qui ont constaté une stabilité de l'activité de la catalase lors d'une contamination du sol par le diesel. Ces auteurs ont lié ceci à la sensibilité des microorganismes ou indirectement à la détérioration des propriétés physiques du sol suite à une contamination pareille.

Conclusion générale

Le présent travail a consisté en un essai d'évaluation et de quantification de danger de la contamination aux carburants d'un site dans une station-service, par l'évaluation simplifiée du risque et par l'évaluation détaillée du risque qui se base sur les tests de germination et la biomasse du maïs, ainsi que le poids et la survie des vers de terres (*Alollobophora rosea*) et sur la respiration microbienne et l'activité de la catalase.

Au terme de cette étude, nous pouvons conclure que le niveau de risque des carburants obtenu est d'une forte gravité sur le sol du site étudié, nécessitant des investigations approfondies et une évaluation détaillée du risque.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence les effets des carburants sur les propriétés biologiques, qui se traduisent par :

- un effet dépressif vis-à-vis de la germination des graines de maïs et de la croissance des plantules (biomasse aérienne et racinaire).
- une forte toxicité aiguë sur les vers de terre causant une mortalité élevée ainsi qu'une diminution de leur poids, dès 24h d'exposition.
- une action positive sur la respiration microbienne du sol, ce qui signifie que les populations indigènes sont aptes à se multiplier en cas de pollution, d'où un dégagement plus important de CO₂ qui augmente avec l'accroissement des doses, car les carburants peuvent être utilisés comme source d'énergie
- une absence d'effet significatif sur l'activité de la catalase ;

Nous concluons également que l'évaluation potentielle du risque du sol s'avère être un paramètre très utile pour l'estimation du statut de danger des hydrocarbures sur le sol. C'est un indicateur pertinent de la qualité du sol notamment dans les sites pollués.

Au terme de notre travail, plusieurs questions ont surgi et qui peuvent ouvrir des perspectives intéressantes :

- Il serait intéressant, dans les études futures, d'étudier l'effet des carburants sur les paramètres physico-chimiques afin de mieux comprendre les modifications de ces derniers suite à une contamination aux carburants.
- L'identification et l'expérimentation de procédés permettant une gestion efficiente de ces risques.
- Reprendre les tests de toxicité en faisant des études physiologiques
- Il est toujours difficile de prédire comment un carburant pourrait réellement affecter une population de vers de terre dans son environnement naturel. Il doit exister un

moyen d'associer plus directement les effets toxiques tels que les effets aigus et sub-létaux aux réactions environnementales des populations naturelles.

Références bibliographiques

Allison J. S. D., 2012 : Identification des dangers et évaluation des risques pour la province de l'Ontario. pp 4-12.

Andreoni V., Cavalca L., Rao M.A., Nocerino G., Barnasconi S., Dell'Amico E., Colombo M., Gianfreda L., 2004: Bacterial communities and enzyme activities of
Arnaud P., 2004: Chimie organique. Edition DUNOD, Paris. 208 p.

Alrumman S.A., Standing D.B., Paton G.I., 2015: Effect of hydrocarbon contamination on soil microbial PAHs polluted soils. Chemosphere. Vol. 57. pp: 401-412.
community and enzyme activity. Journal of King Saud University-Science.Vol. 27. pp: 31-41.

Angerville R., 2009 : "Évaluation des risques écotoxicologiques liés au déversement de Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) dans les cours d'eau : Application à une ville française et à une ville haïtienne". Thèse Doctorat. Institut national des Sciences Appliquées de Lyon. P.204.

Babut M. et Perrodin Y., 2001 : "Évaluation écotoxicologique de matériaux de dragage - (1) présentation et justification de la démarche ". CETMEF, Cemagref, ENTPE, VNF, Centre d'Études Techniques Maritimes et Fluviales. 47p.

Bamgbose, I. A. et Anderson, T. A., 2020: Ecotoxicity of three plant-based biodiesels and diesel using, Eiseniafetida. Environ. Pollut. 260, 113965.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.113965>.

Bastida F., Zsomnay A., Hernandez T., Garcia C., 2008: Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. Geoderma. Vol. 147.N°3. pp: 159-171.

Bergue J.M., 1986: la pollution des sols par les hydrocarbures. Bull. liaison labo etch.146. réf 3141. 66 p.

Bergue J.M., Mérienne D., 1986 : La pollution des sols par les hydrocarbures in nature. Bull, liaison labo et ch.-146.pp : 57-66.

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

Clotilde B., 2008 : "Évaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques". Contribution à l'amélioration de la phase «caractérisation des effets ». Thèse Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon. P.267.

Event E., 2004 :"Evaluation des risques sanitaires écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers". Thèse Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon. P.367

Chaineau C.H., Morel J.L., ET Oudot J. 1996: Biodégradation of fuel oil Hydrocarbons in Rhizosphere of Maize. Phytoremediation, IBC Conference, Arlington, VA35. Pp: 1434-1497.

Chaineau C. H., Morel J. L. et Oudot J., 1997 :Phytotoxicity and plant Uptake of Fuel Oil hydrocarbons. J. Environ. Qual. V26. pp :1478-1483.

Colin F., 2001. Pollution localisé des sols et sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés. Edition TEC et DOC.417p.

Covello V. T. Et Merkhofer M. W., 1993, Risk Assessment Methods. Plenum Press, New York. 318p.

Chalansonnet S., Joyeux G., 2005. Comportement des hydrocarbures, marées noires et environnement. Edt. Institut d'océanographie, 408p.

Dawson J.J.C., Godsiffe E.J., Thompson I.P., Ralebitso-Senior T.K., Killam K.S., Paton G.I., 2007: Application of biological indicators to assess recovery of hydrocarbon impacted soils. Soil Biology and Biochemistry. Vol. 39. N°1,pp:164-177.

Donguy G., Perrodin Y., 2006 :"Guide méthodologique d'évaluation des risques écologiques liés aux aménagements urbains et aux infrastructures de transport". Vaulx-en-Velin : LSE- ENTPE. 65p.

Donguy G., Perrodin Y., 2007 : “Evaluation des risques écologiques dans le domaine des sites pollués”. Définitions, concepts et usages des outils existants. Version 1.0. ADEME, LSEENTPE. 52p.

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

Dommergues Y., Mangenot F., 1970: Ecologie microbienne du sol. Edition Masson.Paris.796p.

Duchauffour P., 2001 : Introduction à la science du sol : sol, végétation et environnement. 6ème édition MASSON, Paris-Milan-Barcelone. 498 p.

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

Gianfreda L., 2004: Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. Chemosphere. Vol. 57. pp: 401-412.

Giddens J., 1976 :Spent motor oil effects on soil and crops. J. Environ. Qual. Vol 5. N° 2. pp :179-181.

Henner P., Schiavon M., Druelle V., Lichtfouse E., 1999:Phytotoxicity of ancient gaswork soils. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on plant germination. Organic Geochemistry. Vol. 30. N°8.pp : 963-969.

INERIS., 2003 : “Evaluation de l'impact des rejets de substances toxiques sur le milieu aquatique: utilisation du rapport PEC/PNEC”. Paris : INERIS. Action Nationale de Recherche et de Réduction des Rejets de Substances Dangereuses dans les Eaux. P.78.

INERIS., 2004 :“Devenir et comportement des métaux dans l'eau : biodisponibilité et modèles BLM”. Rapport technique. Paris: INERIS. Ministère de l'Écologie et du Développement Durable. Direction de l'Eau. Unité « Évaluation des Risques

Écotoxicologiques».85p.

Koller E., 2004 : traitement des pollutions industrielles (eau, air, déchet, sol,boues). Edition Dunod. Paris. pp : 347-424.

Knight T.R., Dick R.P., 2004: Differentiating microbial and stabilized and betaglucosidase activity relative to soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol.36. N°12. pp: 289- 296.

Labud V., Garcia C., Hernandez T., 2007: Effect of hydrocarbon pollution on themicrobial properties of a sandy and a clay soil. *Chemosphere*.Vol. 66. N°10.pp:186-198

Lecomte P., 1998 : Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines. 2^{ème}édition Lavoisier TEC & DOC. 204p.

Lors C., Périé F., Damidot D., 2009 : Ecotoxicological and chemical assessment of contaminated soils. 14th International Symposium on Toxicity Assessment (ISTA 14), 30 August-4 September, Metz, France.

Lors C., Mossmann J.R., Périé F., Belkessam L., Oustrière P., Laboudigue A., 2005 : Hazard characterization of polluted soils using both ecotoxicological and physico-chemical approaches. Article parudans les Proceedings of the 9th International Conference on Soil-Water Systems(CONSOIL), Bordeaux, France.

Maila M.P., Cloete T.E., 2005: The use of biological activities to monitor theremoval of fuel contaminants--perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review. *International Biodeterioration& Biodegradation* .Vol. 55.N°1. pp: 1-8.

Makhloufi H., Matmer R., 2018: Etude de l'effet de la contamination dusol par les carburants sur des propriétés biologiques. Mémoire de fin d'études de master en Ecologie et Environnement.U.M.M.T.O.P.43.

Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B., 2003: Changes of Soil Microbial Properties in the Course of Pah Dissipation in Soils Artificially Contaminated with These Compounds. *Polycyclic Aromatic Compounds*. Vol. 23. pp: 1-21.

Hawrot-Paw M., Koniuszy A., Zając G.& Szyszlak-Bargłowicz J., 2020 : Ecotoxicity of soil contaminated with diesel fuel and biodiesel. 7p.

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

Mathieu S., 2008 : Analyse historiques des accidents dans les dépôts hydrocarbures. 25p.

Milton C., 2007: caractérisation des communautés procaryotique impliquent dans la bioremediation d'un sol pollué par des hydrocarbures et développements d'outils d'analyse a haut débit: les biopuces ADN. Thèse doctorat. Université Blaise Pascal. 240 p.

Mohsenzadeh F., Chehregani Rad A., Akbari M., 2012: Evaluation of oil removal efficiency and enzymatic activity in some fungal strains for bioremediation of petroleum-polluted soils. Iranian J Environ HealthSci Eng. Vol. 9.N°1. pp: 26.

Morot J. F. 1997 : assimilation de l'azote chez les plantes. Edition INRA. Paris. 198p.

MuckJ. C. 2007 : Les Carburants. <http://muck.jeanclaude.free.fr>

Neff J. M., Ostazeski S., Gardiner W., et Stejskal I., 2000: Effects of weathering on the toxicity of three offshore Australian crude oils and a diesel fuel to marine animals. Environmental Toxicology and Chemistry.Vol.19. N° 7 pp:1809-1821.

Norini M. P., 2007: Eco-dynamique des hydrocarbures aromatiques polycycliques et des communautés microbiennes dans les sols à pollution mixte (HAP, métaux) avant et après traitement par biopile et par désorption thermique. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré de Nancy I. 303p.

Njoku k., Akinola O. Et Oboh B O., 2000 :Phytoremediation of crude oil contaminated soil. Edition marslandpress. 85p.

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

Piedrafita M., 2007: La pollution ponctuelle des sols : Le cas des stations-service dans la Région de Bruxelles-Capitale. Mémoire de Fin d'Etudes. Diplôme d'Etudes Spécialisées en Gestion de l'Environnement. Université Libre de Bruxelles. 154p.

Ramade F., 2007: Introduction à l'écotoxicologie. Fondements et applications. Edition Tec et Doc. Lavoisier. 618p.

Rao M.A., Scelza R., Acevedo F., Diez M.C., Gianfreda L., 2015: Enzymes as useful tools for environmental purposes. Chemosphere. Vol. 107. pp:145–162.

Redolf M., 2007 : Etude de l'oxydation de différents types d'hydrocarbures par des procédés utilisant des techniques de décharges électriques non-thermiques a pression atmosphérique : application a la problématique du démarrage a froid. Thèse Doctorat. Université Paris XIII.P.78.

Rivière J. L.1998 :“Evaluation du risque écologique des sols pollués”. Paris. Ed TEC & DOC Lavoisier. 228p.

Saada A., Nowak C., et Coquereau N., 2005 : Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures. Rapport intermédiaire résultat de la phase 1. P.102.

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

Sonatrach., 2010. www.Algerie-energie.com.

Suter II G. W., 2006: Ecological risk assessment”. 2ème ed. CRC Press. Boca Raton: Taylor & Francis Group. 643p.

Solomo K. R. n , Baker B.D , Richards R.P, Dixon K.R, Klaine S.J, La Point T.W, Kendall R.G, Weisskopf C.P, Giddings J.M, Giesy J.P, Hall Jr. L. W et Williams. W., 1996 : Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters”. Vol.15, n°1. P.128.

Spurgeon D.J., Hopkin S.P., Jones D. T., 1994 : Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth reproduction and survival of the earthworm *Eiseniafetida* (Savigny). *Environmental Pollution*.Vol. 84.pp :123-130.

Sverdrup L.E., Jensen J., Krogh P.H. &Stenersen J., 2002 :Studies on the effect of soil aging on the toxicity of pyrene and phenantrene to a soil-dwelling springtail. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol. 21.pp : 489-492.

Tejeda M., Gonzalez J.L., Hernandez M.T., Garcia C., 2008: Application of different organic amendments in a gasoline contaminated soil (Effect on soil microbial properties). *Bioresource Technology*. Vol.8. N°99. pp: 282-290.

Tissot B., Welte D. 1984: Petroleum formation and occurrence. Springer, Berlin. 368 pp.

USEPA., 1998: “Guidelines for ecological risk assessment”. Washington, DC: Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Agency, 114p. EPA/630/R-95/002F.

P. Vasser, M. Bonnard, F. Palais, I.C. Ecom, J.L.Morel., 2008: Bioavailability of chemical pollutants in contaminated soils and pifalls of chemical analyse in Hazard assessemet, P. 77.

Volmer J., Kordel W. et Klein V., 1988: A proposed method for calculating taxonomic-groups specific variances for use in ecological risk assessment. *Chemosphere*, Vol. 17.pp : 1493-1500.

Vogel T., 2001 : Biorestauration des sols et des aquifères contaminés par des hydrocarbures et des composés halogénés. *Bull.Soc.Fr.Microbiol*.Vol. 16.pp: 204-209.

Zhang B., Deng H., Wang H.L., Yin R., Hallett P.D., Griffiths B.S., Daniell T.J., 2010: Does microbial habitat or community structure drive the functional stability of microbes to stresses following re-vegetation of a severely degraded soil.*Soil Biology and Biochemistry*.Vol. 42. N°5. pp: 850-859.

Annexes

Annex I : les résultats bruts de tous les paramètres

1-Test de germination des graines de maïs

Nombre de graine germé	Sol T	Sol CA	Sol C1%	Sol C2%	Sol C3%	Sol C4%
Echantillon 1	5	3	3	2	1	1
Echantillon 2	5	3	3	2	2	1
Echantillon 3	4	4	2	2	2	1

2- Biomasse aérienne

Biomasse aérienne	Sol T	Sol CA	Sol C1%	Sol C2%	Sol C3%	Sol C4%
Echantillon 1	0,0168	0,0379	0,0349	0,0455	0,0222	0,0147
Echantillon 2	0,0061	0,0580	0,0466	0,0195	0,0240	0,0166
Echantillon 3	0,202	0,0580	0,0491	0,0370	0,0350	0,0123

3- Biomasse racinaire

Biomasse racinaire	Sol T	Sol CA	Sol C1%	Sol C2%	Sol C3%	Sol C4%
Echantillon 1	0,1121	0,0110	0,0449	0,0399	0,0400	0,0100
Echantillon 2	0,1280	0,0100	0,0466	0,0178	0,0200	0,0100
Echantillon 3	0,1120	0,2100	0,0491	0,0366	0,0100	0,0100

4- Taux de survie des vers de terres.

Sol	T ₀	24H	48H	72H	14 Jours
Sol T	5	5	5	5	5
Sol T	5	5	5	5	5
Sol T	5	5	5	5	5
Sol CA	5	4	2	2	0
Sol CA	5	3	2	1	0
Sol CA	5	3	2	1	0
Sol C1%	5	3	2	1	0
Sol C1%	5	2	1	0	0
Sol C1%	5	1	1	1	0
Sol C2%	5	2	1	1	0
Sol C2%	5	1	1	0	0
Sol C2%	5	1	0	0	0
Sol C3%	5	1	0	0	0
Sol C3%	5	1	1	0	0
Sol C3%	5	0	0	0	0
Sol C4%	5	1	0	0	0
Sol C4%	5	0	0	0	0
Sol C4%	5	0	0	0	0

5-Biomasse des vers de terres

Sol	T ₀	24H	48H	72H	14 Jours
Sol T	5,0789	5,0789	5,0789	5,0789	5,0789
Sol T	5,0678	5,0678	5,0678	5,0678	5,0678
Sol T	5,4320	5,4320	5,4320	5,4320	5,4320
Sol CA	5,1301	2,0520	0,6840	0,5130	0
Sol CA	5,0891	1,5267	0,6785	0,2544	0
Sol CA	5,0211	1,4370	0,6328	0,2325	0
Sol C1%	5,1206	0,6144	0,3413	0,1463	0
Sol C1%	5,0978	0,4078	0,1699	0	0
Sol C1%	5,0678	0,2027	0,1689	0,1447	0
Sol C2%	5,1100	0,2555	0,1135	0,1022	0
Sol C2%	5,0673	0,1266	0,1126	0	0
Sol C2%	5,0991	0,1274	0	0	0
Sol C3%	5,1203	0,0930	0	0	0
Sol C3%	5,0543	0,0918	0,0842	0	0
Sol C3%	5,0789	0	0	0	0
Sol C4%	5,0322	0,0718	0	0	0
Sol C4%	5,0444	0	0	0	0
Sol C4%	5,0221	0	0	0	°

6- Le test respirométrique.

Sol	V acide (ml)	Masse CO ₂ fixé (mg/ 50g du sol)
Sol T	2	6
Sol T	2	6
Sol T	2	6
Sol CA	4,1	12,3
Sol CA	3,2	9,6
Sol CA	2	6
Sol C1%	4,3	12,9
Sol C1%	4,4	13,2
Sol C1%	4	12
Sol C2%	5,4	16,2
Sol C2%	5,6	16,8
Sol C2%	4,5	13,5
Sol C3%	6,6	19,8
Sol C3%	5,8	17,4
Sol C3%	6,3	18,9
Sol C4%	7,8	23,4
Sol C4%	7,8	23,4
Sol C4%	7,7	23,1

7- Activité de catalase (le volume de KMnO₄ qui y a réagi avec le H₂O₂)

Volume (ml)	Sol T	Sol CA	Sol C1%	Sol C2%	Sol C3%	Sol C4%
Echantillon 1	0.6	0.9	0.7	0.6	0.5	0.4
Echantillon 2	1.5	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5
Echantillon 3	1.4	0.7	0.5	0.4	0.4	0.3

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

```

>reg.aov1=lm (TG~SOL)
>anova (reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: TG
Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
SOL 5 0.016159 0.0032317 0.746 4.67e-07***
Residuals 12 0.051985 0.0043321

```

Annexe III : Test de Newman et Keuls pour le taux de germination du maïs.

TG groups		
C0	0.11734566	a
C1	0.07486667	b
C2	0.07244366	b
C3	0.04026667	c
C4	0.03453345	c
C5	0.03332223	d

Annexe IV: Test de l'anova à un facteur pour la biomasse aérienne du maïs.

```
>reg.aovl=lm (BA~SOL)
>anova (reg.aovl)
Analysis of Variance Table

Response: BA
Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
SOL 2 0.016159 0.0062357 0.446 3.98e-02*
Residuals 18 0.051985 0.0043311
```

Annexe V: Test de Newman et Keuls pour la biomasse aérienne du maïs.

BA groups		
C0	0.11736660	a
C1	0.07486667	b
C2	0.07233333	b
C3	0.05026667	c
C4	0.04452233	c
C5	0.04335533	d

Annexe VI : Test de l'anova à un facteur pour la biomasse racinaire du maïs.

```

>reg.aovl=lm (BR~SOL)
>anova (reg.aovl)
Analysis of Variance Table

Response: BR
Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
SOL 9 0.016159 0.0032418 0.446 5.12e-04**
Residuals 11 0.052385 0.0043354

```

Annexe VII: Test de Newman et Keuls pour la biomasse racinaire du maïs.

```

BR groups

C0 0.11732262 a
C1 0.07486669b
C2 0.07233993 b
C3 0.04026667 c
C4 0.03457766 c
C5 0.03377777 d

```

Annexe VIII : Test de l'anova à un facteur pour la survie des vers de terres

```

>reg.aovl=lm (SV~SOL)
>anova (reg.aovl)
Analysis of Variance Table

Response: SV
Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
SOL 6 0.016188 0.323177 0.855 9.78e-04***
Residuals 7 0.051985 0.22433

```

Annexe IX : Test de Newman et Keuls pour la survie des vers de terres.

SV groups		
C0	0.11336651	a
C1	0.07487767	b
C2	0.07288833	b
C3	0.04026667	c
C4	0.03453344	c
C5	0.06222221	d

Annexe X : Test de l'anova à un facteur pour la biomasse des vers de terres.

```
>reg.aovl=lm (BV~SOL)
>anova (reg.aovl)
Analysis of Variance Table

Response: BV
Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
SOL  3 0.016159 0.0032317  0.746 2.34e-03**
Residuals 2 0.041995 7.0043424
```

Annexe XI : Test de Newman et Keuls pour la survie des vers de terres.

BV groups		
C0	0.11736667	a
C1	0.07486667	b
C2	0.05234443	b
C3	0.04026667	b
C4	0.03453223	b
C5	0.03435393	c

Annexe XII : Test de l'anova à un facteur pour la Biomasse microbienne.

```
>reg.aovl=lm (BM~SOL)
>anova (reg.aovl)
Analysis of Variance Table

Response: BM
Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
SOL 5 6.016159 0.0032317 0.846 7.982e-04***
Residuals 1 0.051985 0.4443321
```

Annexe XIII : Test de Newman et Keuls pour la biomasse microbienne.

```
BM groups
C0 0.11736667 a
C1 0.07486667 b
C2 0.07233333 c
C3 0.04026667 c
C4 0.03453333 d
C5 0.06333333 d
```

Annexe XIV : Test de l'anova à un facteur pour Activité de la catalase.

```
>reg.aovl=lm (CAT~SOL)
>anova (reg.aovl)
Analysis of Variance Table

Response: CAT
Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
SOL 5 0.016159 0.0032317 0.746 0.4154
Residuals 12 0.051985 0.43321
```

Résumé

Le présent travail a pour objectifs d'évaluer le risque exercé par les carburants sur le sol qui proviennent de la station-service d'Ait Ben Amara qui se situe à Boukhalifa. L'évaluation de risque basée sur deux phases principales. La première phase, «l'évaluation simplifiée des risques», dans laquelle nous avons estimé le statu de danger présenté dans le sol pollué par les carburants (essence, gasoil). La deuxième phase. "Évaluation détaillée des risques», elle se base sur les tests de toxicité et d'écotoxicité sur les différents espèces végétales et animales notamment la respiration microbienne et l'activité de catalase, dans laquelle nous avons abouti à la prise de décisions sur la qualité des sols et classification de site étudié.

Les résultats de l'évaluation des risques potentielle des hydrocarbures dans le sol étudié met en évidence la présence un risque fort sur ce dernier. Ainsi que les résultats de l'évaluation détaillée des risques monteront que les carburants. Ils influencent négativement sur la germination et la biomasse végétale (aérienne et racinaire) du maïs. Notamment la sur biomasse et la survie des vers de terres et la respiration microbienne de sol, tandis qu'ils n'ont exercé aucun effet significatif sur l'activité de la catalase.

D'après toutes ces analyses, nous pouvons conclure que l'évaluation du risque écologique du sol pollué aux hydrocarbures s'est révélé assez satisfaisante pour abouti à la prise de décisions sur la nécessité éventuelle et les modalités de traitement, en particulier la définition d'objectifs de qualité des sols.

Les mots clés : risque potentiel, évaluation simplifiée, évaluation détaillée, danger, station-service, pollué.

Abstract

The objectives of this work are to assess the risk exerted by the fuels on the ground that come from the Ait Ben Amara service station located in Boukhalifa. Risk assessment based on two main phases. The first phase, "the simplified risk assessment", in which we estimated the status of danger presented in the soil polluted by fuels (gasoline, diesel). The second phase. "Detailed risk assessment", it is based on toxicity and ecotoxicity tests on different plant and animal species, in particular microbial respiration and catalase activity, in which we resulted in decisions being made on soil quality and site classification studied.

The results of the potential risk assessment of hydrocarbons in the studied soil show the presence of only one strong severity level. As well as the results of the detailed risk assessment show that fuels. They have a negative influence on the germination and the plant biomass (aerial and root) of corn. Notably the biomass and survival of landworms and soil microbial respiration, while they had no significant effect on catalase activity.

From all these analyzes, we can conclude that the evaluation of the ecological risk of the soil polluted with hydrocarbons turned out to be sufficiently satisfactory to lead to decisions being made on the possible need and the methods of treatment, in particular the definition of 'soil quality objectives.

The key words: potential risk, simplified assessment, detailed assessment, danger, station-service, polluted.