

**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 animale et végétale.**



## **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 de sites pollués aux carburants cas des stations-service de Makouda et de Ouadhias.***

**Présenté par :** M<sup>me</sup> ABDICHE Lydia & M<sup>me</sup> LEKADIR Malika.

**Devant le jury :**

**Présidente :** M<sup>me</sup> SADOUDI-ALI AHMED D.

Professeur à l'U.M.M.T.O.

**Promotrice :** M<sup>me</sup> ALI AHMED S.

M.A.A à l'U.M.M.T.O.

**Examinatrice :** M<sup>me</sup> LANDRI G.

M.A.A à l'U.M.M.T.O.

**Promotion : 2020/2021.**

## **Remerciement**

*En premier, nous remercions le bon Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné santé, patience et courage pour mener à terme ce modeste travail.*

*Nous remercions en particulier, notre promotrice M<sup>me</sup> ALI AHMED S. Maître assistante au département de biologie à L'UMMTO pour nous avoir proposé cette thématique et nous avoir encadrés durant ce travail. Nous avons appris énormément avec elle et nous avons bénéficiés de ses précieux conseils, de son expérience scientifique et de ses remarques très pertinentes. Et nous la remercions infiniment pour le grand intérêt qu'elle a porté à notre travail.*

*Nous remercions aussi très sincèrement les membres du jury, la présidente M<sup>me</sup> SADOUDI-ALI AHMED D. Professeur au département de biologie à L'UMMTO d'avoir accepté de présider le jury et l'examinatrice M<sup>me</sup> LANDRI G. Maître Assistante au département de biologie à L'UMMTO pour l'aide qu'elle nous a apporté dans l'identification des espèces de vers de terre et aussi d'avoir bien voulu accepter d'évaluer notre travail.*

*Nous remercions également l'ingénieur du laboratoire "pathologie des écosystèmes" de l'UMMTO M<sup>me</sup> ABROUS H. pour son aide et son soutien tout au long de l'expérience.*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.*

## ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ma très chère petite famille, mon mari Viedh et mes enfants Nelia, Thileli et Jugurta Arezki.*

*A ma grande famille, mes parents, frères et sœurs et à ma belle-sœur et ses enfants.*

*A toi Lydia ma binôme et à Sylia H. Célia B. et Deya M.*

***Malika L.***

## ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes chers parents qui m'ont soutenus et encourager  
durant toutes mes années d'étude. Qu'ils trouvent ici le  
témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*A mes sœurs : Sabrina, Lila, Dyhia et Rosa.*

*A mon frère Farid.*

*A ma binôme Malika et sa petite famille.*

*A mes amis : Thara, Hadjira, Ghiles, Ouahiba, Syla,  
Célia, Sonia, Deya.*

***Lydia A.***

## Liste des abréviations

BTEX: Benzène, Toluène, Éthylbenzène et Xylènes.

CAT: Catalase.

CE: Conductivité électrique.

CO: Carbone organique.

DL<sub>50</sub>: Dose létale pour 50% des individus.

EDR: Evaluation détaillée du risque.

ESR: Etude simplifiée de risque.

HC: Hydrocarbures.

MO: Matière organique.

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Sources potentielles de pollution au droit d'une station-service.....	4
<b>Figure 2 :</b> Principales phases d'une méthodologie générale d'une EDRE.....	7
<b>Figure 3 :</b> Exemple d'une courbe dose-réponse (concentration effet) et valeur remarquables NOEC, LOEC, CE5.....	13
<b>Figure 4:</b> Localisation géographique de la station-service Makouda.....	15
<b>Figure 5:</b> Localisation géographique de la station-service Ouadhias .....	16
<b>Figure 6 :</b> Dispositif expérimental des tests toxicologiques et bioessais.....	24
<b>Figure 7:</b> Protocole expérimental de l'activité biologique du sol.....	28
<b>Figure 8:</b> Protocole expérimental de dosage de la catalase.....	29
<b>Figure 9:</b> Protocole expérimental de l'extraction des hydrocarbures.....	30
<b>Figure 10:</b> Taux de germination des graines de maïs dans le sol de Makouda.....	35
<b>Figure 11:</b> Taux de germination des graines de maïs dans le sol d'Ouadhias.....	36
<b>Figure 12:</b> Elongation racinaire de maïs dans le sol de Makouda.....	37
<b>Figure 13:</b> Elongation racinaire de maïs dans le sol d'Ouadhias.....	38
<b>Figure 14:</b> Biomasse aérienne des plants de maïs dans le sol de Makouda.....	39
<b>Figure 15 :</b> Biomasse aérienne des plants de maïs dans le sol d'Ouadhias.....	40
<b>Figure 16:</b> Biomasse racinaire des plants de maïs dans le sol de Makouda .....	41
<b>Figure 17:</b> Biomasse racinaire des plants de maïs dans le sol d'Ouadhias.....	42
<b>Figure 18 :</b> Droite des probits du taux de mortalité des vers de terre dans le sol de Makouda (a) et de Ouadhias (b) en fonction de Log(C) après 24h d'exposition aux carburants.....	42

<b>Figure 19:</b> Variation dans le temps du poids des vers de terre en fonction des concentrations des carburants dans le sol de la station de Makouda.....	43
<b>Figure 20:</b> Variation dans le temps du poids des vers de terre en fonction des concentrations des carburants dans le sol de la station de Ouadhias.....	44
<b>Figure 21:</b> Dégagement de carbone cumulé en 7 jours dans le sol de Makouda.....	45
<b>Figure 22:</b> Dégagement de carbone cumulé en 7 jours dans le sol d'Ouadhias.....	46
<b>Figure 23 :</b> Activité de catalase dans le sol de Makouda.....	47
<b>Figure 24 :</b> Activité de catalase dans le sol d'Ouadhias.....	48
<b>Figure 25 :</b> Quantité des hydrocarbures totaux dans les sols pollués de site de Makouda et d'Ouadhias.....	49

## Liste des tableaux

<b>Tableau N° 1 :</b> Classes de danger en fonction de l'étiquetage, des valeurs limitées d'exposition professionnelles et de la nature des agents chimiques émis lors des divers travaux.....	18
<b>Tableau N° 2 :</b> Calcul des classes de quantité.....	19
<b>Tableau N° 3 :</b> Détermination des classes de fréquences d'utilisation.....	19
<b>Tableau N° 4 :</b> Détermination des classes d'exposition potentielle.....	20
<b>Tableau N° 5 :</b> Détermination du risque potentiel.....	20
<b>Tableau N° 6:</b> Caractérisation des priorités en fonction du score de risque potentiel par produit.....	21
<b>Tableau N° 7 :</b> Les quantités des carburants de la station Makouda pour chaque concentration....	23
<b>Tableau N° 8:</b> Les quantités des carburants de la station Ouadhias pour chaque concentration...	23
<b>Tableau N° 9 :</b> Tableau englobant les résultats de l'étude simplifiée du risque des deux stations Makouda et Ouadhias.....	31
<b>Tableau N° 10:</b> Les caractéristiques des sols prélevés dans la station-service de Makouda.....	33
<b>Tableau N° 11 :</b> Les caractéristiques des sols prélevés dans la station-service de Ouadhias.....	34

# Sommaire

# Sommaire

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

## Chapitre I: synthèse bibliographique

I. Sol pollué par les hydrocarbures.....	3
I.1. Sol pollué.....	3
I.2. Contamination du sol par les hydrocarbures.....	3
I.3. Sources de contamination des sols par les hydrocarbures.....	3
I.4. Devenir et comportement des hydrocarbures dans le sol.....	5
II. Evaluation du risque écologique d'un site pollué.....	5
II.1. Définitions.....	5
II.1.1. Site pollué.....	5
II.1.2. Evaluation du risque écologique.....	5
II.1.2.1. Le danger.....	6
II.1.2.2. Le risque.....	6
II.2. Les principes généraux de l'évaluation du risque écologique.....	6
II.2.1. La formulation du problème.....	7
II.2.1.1. Evaluation simplifiée du risque.....	7
II.2.2. L'analyse.....	8
II.2.2.1. Caractérisation de l'exposition.....	9
II.2.2.2. Caractérisation des effets.....	9
II.2.3. Caractérisation du risque.....	10
III. Les tests d'écotoxicité et les bio-essais de laboratoire.....	10
III.1. Notion de bioessai et d'écotoxicité.....	11
III.2. Les bioessais sur les plantes terrestres.....	11
III.3. Les bioessais sur les vers de terre.....	12
III.4. Les différentes formes de toxicité.....	12

III.5. Interprétation des résultats des tests écotoxicologiques.....	13
--	----

## **Chapitre II : Matriels et méthodes**

I. Présentation des sites d'échantillonnages.....	15
I.1. Station-service Makouda (La Crête).....	15
I.2. Station-service Ouadhias (Ait Bouaddou).....	15
II. Matériel.....	16
II.1. Le sol.....	16
II.2. Matériel biologique.....	17
II.2.1. Matériel végétal.....	17
II.2.2. Les vers de terre.....	17
II.3. Les hydrocarbures.....	17
III. Méthodes.....	17
III.1. Evaluation simplifiée du risque (ESR).....	17
III.1.1. Classes de danger.....	18
III.1.2. Détermination des Classes de quantité.....	18
III.1.3. Détermination des classes de fréquence d'utilisation.....	19
III.1.4. Détermination de la classe d'exposition potentielle.....	19
III.1.5. Détermination du score de risque potentiel.....	20
III.2. Etude détaillée du risque.....	21
III.2.1. Méthode d'échantillonnage.....	21
III.2.2. Préparation du sol.....	22
III.2.3. Contamination du sol.....	22
III.2.4. Réalisation d'essais de toxicités et de bioessais.....	25
III.2.4.1. Tests toxicologiques et bioessais sur le maïs.....	25
III.2.4.1.1. Test de germination.....	25
III.2.4.1.2. Tests de croissance.....	26

III.2.4.1.2.1. Elongation racinaire.....	26
III.2.4.1.2.2. Biomasse aérienne et Biomasse racinaire.....	26
III.2.4.2. Test de toxicité sur les vers de terre.....	26
III.2.4.3. Test de toxicité sur les microorganismes.....	27
III.2.4.3.1. L'activité biologique.....	27
III.2.4.3.2. L'activité de la catalase (CAT).....	28
III.3. Quantification des hydrocarbures.....	29
III.4. Méthodes d'analyse statistique.....	30

### **Chapitre III : Résultats et discussions**

I. Résultats.....	31
I.1. Etude simplifié du risque.....	31
I.2. Les caractéristiques physicochimiques du sol des deux sites d'étude.....	33
I.3. Les tests écotoxicologiques et bioessais.....	35
I.3.1. Test de germination.....	35
I.3.2. Elongation racinaire.....	36
I.3.3. Biomasse aérienne.....	38
I.3.4. Biomasse racinaire.....	40
I.3.5. Mortalité des vers de terre .....	42
I.3.6. Variation du poids des vers de terre.....	43
I.3.7. L'activité biologique.....	45
I.3.8 Activité de la catalase.....	46
I.4. Quantification des hydrocarbures.....	48
II. Discussions.....	49
Conclusion générale.....	53
Références bibliographiques.....	55
Liste des annexes	

# **Introduction**

# Introduction

---

## Introduction

La pollution environnementale due aux déversements accidentels de pétrole et aux fuites des oléoducs est très courante. Elle est devenue une préoccupation majeure pour les gouvernements, les écologistes et les communautés. En effet la pollution des sols par le pétrole peut conduire à un retard de croissance des plantes, à l'infertilité des sols, et à des changements dans les propriétés physico-chimiques et microbiologiques du sol (Ikuesan, 2017).

Beaucoup de recherches ont été effectuées sur l'impact des rejets catastrophiques d'hydrocarbures, mais peu de recherches concernent la contamination potentielle du sol due aux rejets chroniques de carburants liquides lors du ravitaillement des véhicules dans les stations-service (Hilpert et *al.*, 2015).

Dans ces stations, une petite fraction non brûlée est rejetée dans l'environnement pendant le stockage et le transfert du carburant. Bien que cette fraction puisse être faible, le rejet cumulé peut être important en raison des grandes quantités de carburants vendus (Hilpert et *al.*, 2015). Selon l'étude réalisée par American Petroleum Institute, 0,9 g à 2,4 g d'essence liquide sont en moyenne rejetés lors de ravitaillement d'un véhicule à moteur avec ou sans remplissage du réservoir (Wixtrom et Brown, 2014). Les volumes cumulés dus aux petits déversements répétés qui se produisent dans les installations de distribution d'essence ont été calculés par Hilpert et Breysse (2014). Ils estiment qu'une station-service vendant environ 400 000 litres d'essence par mois déverserait au moins 150 litres chaque année.

Les impacts potentiels de ces hydrocarbures rendent nécessaire la mise en place de manière urgente d'une évaluation du risque sur de tels écosystèmes.

De plus en plus, les politiques de gestion des sites pollués font appel à l'évaluation du risque pour fonder leur approche sur la gestion de ce risque et l'information du public. Ceci permet au gestionnaire de mieux argumenter les décisions et de les communiquer plus facilement au public (Colin, 2000).

Des méthodes d'évaluation des risques écologiques ont été développées dans différents domaines, tels que la mise sur le marché de nouvelles substances chimiques (ECB, 2003), la gestion des sites pollués (CEAEQ, 1998; US EPA, 1998; Environment Agency of United Kingdoms, 2003), la gestion des sites de stockage et de valorisation des déchets, (ADEME, 2002). Toutefois, très peu d'outils existent pour évaluer les risques écotoxicologiques liés à des scénarios spécifiques et engendrés par la présence de polluants en mélange (Boillot, 2008)

## Introduction

---

L'évaluation du risque écotoxicologique, comprend traditionnellement trois étapes successives : la formulation du problème, l'analyse, qui est elle-même constituée de deux parties : la caractérisation des expositions et la caractérisation des effets écotoxicologiques, et enfin, la caractérisation du risque (Boillot, 2008).

Par conséquent, les tests écotoxicologiques permettant d'estimer la qualité du sol sont importants pour l'évaluation des risques des sites contaminés par les hydrocarbures (Vaajasaari et al., 2002).

L'évaluation de la toxicité des sols contaminés à l'aide de bioessais peut fournir des informations plus efficaces concernant la caractérisation et la procédure intégrée dans l'évaluation des risques écologiques (Al-Mutairi et al., 2008 in Hentati et al., 2012).

L'objectif de ce travail est de contribuer à l'évaluation du risque écotoxicologique associé à la problématique de déversement de carburants dans deux stations-service situées dans la wilaya de Tizi-Ouzou. La démarche suivie comprend deux étapes, la première consistant en l'évaluation simplifiée du risque en se basant essentiellement sur la réalisation de tests toxicologiques et de bioessais en laboratoire, en utilisant le maïs (*Zea mays*) et les vers de terre du genre *Eisenia* comme organismes test. Des tests sur l'activité biologique et enzymatique du sol ont été aussi évalués.

Le présent travail est constitué de trois chapitres. Le premier chapitre consiste en une revue bibliographique sur la contamination du sol par les hydrocarbures, la procédure de l'évaluation du risque écologique, ainsi que les notions de base sur les tests écotoxicologiques et les bioessais de laboratoire.

Le deuxième chapitre est consacré principalement à la présentation des sites pollués étudiés, ainsi que les différentes méthodes et le matériel utilisé au laboratoire lors de notre expérimentation.

Le troisième chapitre, consiste en la présentation et la discussion de tous les résultats expérimentaux obtenus. Enfin ce travail se termine par une conclusion et quelques perspectives.

# **Chapitre I :**

# **Synthèse bibliographique**

---

## Chapitre I: synthèse bibliographique

### I. Sol pollué par les hydrocarbures

Le sol est un milieu poreux non saturé composé de trois phases : la phase solide (grains et agrégats, etc.), la phase liquide (eau et solutions) et la phase gazeuse. En conséquence, le transport de polluants au sein de ce type de milieu poreux peut se faire sous forme de gaz ou dans l'eau (soluté ou suspension) (Marly, 2007 *in* Carnicer, 2007).

#### I.1. Sol pollué

On dit qu'un sol est pollué lorsqu'il contient une concentration anormale de composés chimiques potentiellement dangereux pour la santé, des plantes ou des animaux (Orée, 2021).

#### I.2. Contamination du sol par les hydrocarbures

Le sol est la destination finale de plusieurs polluants déversés dans l'environnement de manière intentionnelle ou accidentelle. Les hydrocarbures contaminent la surface et le sous-sol du sol. Lors du déversement, les hydrocarbures les plus solubles dans l'eau, principalement les BETEX (benzène, toluène, éthylbenzène et xylène) peuvent être lessivés et atteindre les eaux souterraines, les plus volatiles vont atteindre l'atmosphère et la majeure partie reste dans la matrice du sol (Souza *et al.*, 2011).

La contamination par des concentrations très élevées d'hydrocarbures provoque des signes visuels comme la coloration noirâtre du sol et une odeur prononcée (indice olfactif). Si ces concentrations sont suffisamment élevées pour être vues et senties, elles auront probablement un effet négatif sur les paramètres physico-chimiques et biologiques du sol qui induira une absence complète de végétation. A des concentrations plus faibles, la contamination peut tout de même entraîner une décoloration du sol par rapport aux zones environnantes et une faible croissance végétative (Soil Science Society of America, 2021).

#### I.3. Sources de contamination des sols par les hydrocarbures

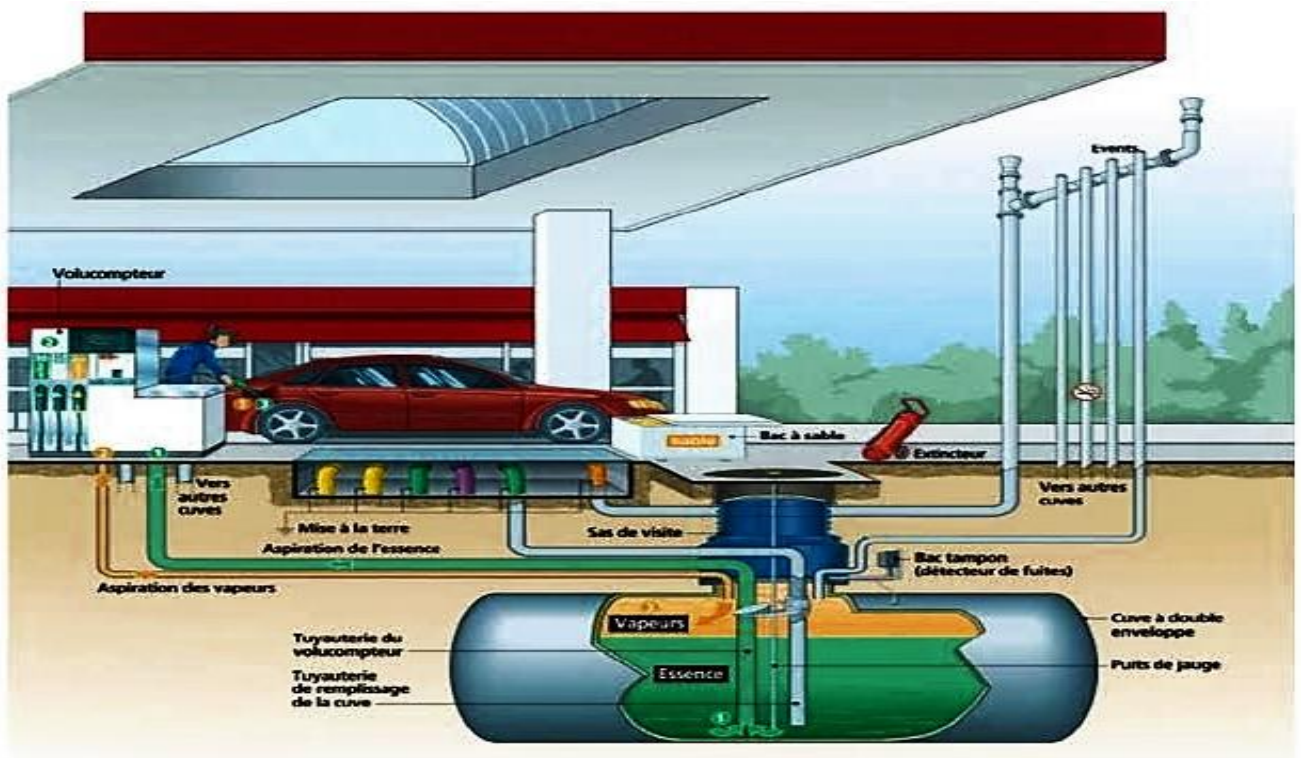
Selon AFNOR X 31410, les hydrocarbures regroupent différents produits pétroliers (pétrole brut, pétrole raffiné, kérosène, essence, fuel, lubrifiants, huiles à moteurs). La présence de ces hydrocarbures dans le sol est liée aux industries de raffinage et de transformation, à leur transport et à leur distribution (Lemière *et al.*, 2001).

La pollution du sol par les hydrocarbures est dite accidentelle lorsqu'elle provient d'un déversement ponctuel dans le temps de substances polluantes. Elle engendre alors une

dégradation du milieu sur une surface limitée. Elle est dite chronique lorsque la substance polluante est déversée durant une longue période, qui a souvent pour origine des fuites sur des conduites ou autres réseaux enterrés, sur des cuvettes de stockage non parfaitement étanches (Colin, 2000).

➤ **Cas d'une station-service**

Dans une station-service, le carburant est transvasé entre les camions citernes et les réservoirs de stockage. Il s'agit d'une activité à risque vu le stockage et la manipulation de ces produits hautement polluants pour le sol. Les cuves de stockages souterrains ainsi que le réseau entre ces cuves peuvent être une source de fuite importante dans le sous-sol comme le montre la fig. 1. Une faible portion de carburant est généralement émise dans l'environnement lors de la distribution, et l'accumulation de celle-ci peut devenir substantielle en raison de grandes quantités de carburants distribuées. L'exploitation de ce type d'activité représente une source potentielle de nuisances (trafic, bruit, pollution atmosphérique, pollution du sol et des eaux) pour le voisinage direct, mais aussi pour l'environnement en général (Carnicer, 2007).



**Figure 1** : Sources potentielles de pollution au droit d'une station-service (Carnicer, 2007).

#### **I.4. Devenir et comportement des hydrocarbures dans le sol**

L'identification des milieux potentiellement affecté par des polluants nécessite une connaissance considérable des informations relatives aux comportements et au devenir des substances dans le sol. Les différents composants des produits pétroliers ou hydrocarbures, une fois déversées dans le sol, sont soumis à l'action de différents processus chimiques, physiques, et biologique qui affectent leur comportement (Gomez, 2010). Ces processus sont classés en trois catégories :

- Mécanismes avec conservation de masse : volatilisation, adsorption, dissolution, diffusion et dispersion.
- Mécanismes destructifs : dégradation biologique ou chimique.
- Autres mécanismes dits de dilution prennent en compte les actions de divers phénomènes liés au climat, qui entraînent la réduction des concentrations de contaminants, le plus souvent sous l'effet d'infiltration d'eau de pluie (Gomez, 2010).

## **II. Evaluation du risque écologique d'un site pollué**

### **II.1. Définitions**

#### **II.1.1. Site pollué**

Un site pollué est un espace où se sont exercées ou s'exercent encore des activités de production, de transformation, de transport, de service, ... et qui, du fait de négligence, de défaut de conception ou de maintenance, conduit à l'apparition de dommages et risques immédiats ou différés pour les usagers et les riverains actuels ou futurs de l'environnement (Ricour, 1993 *in* Rivière, 1998).

#### **II.1.2. Evaluation du risque écologique**

L'évaluation des risques écologiques, est un domaine scientifique récent, pour deux grands types d'application : l'évaluation des risques liés aux substances chimiques et le diagnostic de sites particuliers. Cette partie vise à présenter les méthodologies d'évaluations des risques écologiques et les outils qui y sont associés (Rivière, 1998).

Plusieurs définitions de l'évaluation du risque existent, Suter (1993) *in* Rivière (1989) la définit comme étant « l'opération qui assigne des niveaux et des probabilités aux effets négatifs des activités humaines et des catastrophes naturels ». Pour Covello et Merkhofer (1993) *in* Rivière (1998), 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. Rodricks (1994) *in* Rivière (1998) a également défini cette expression en précisant que

l'évaluation du risque est un moyen systématique pour organiser l'information et la connaissance disponibles et pour spécifier le niveau de certitude scientifique, en relation avec les données, modèles et hypothèses nécessaires ; l'objectif est d'en tirer des conclusions sur les risques pour la santé, de quelque nature qu'ils soient. Il ressort que l'évaluation des risques est fondée sur la distinction fondamentale entre danger et risque :

#### **II.1.2.1. Le danger**

Dans le cas de produits chimiques, le danger est lié à l'existence de substances dangereuses, c'est-à-dire qui ont la potentialité d'exercer des effets négatifs sur le milieu et les espèces vivantes, si elles entrent en contact avec eux (Rivière, 1998).

#### **II.1.2.2. Le risque**

C'est la probabilité d'apparition d'effets toxiques après exposition des organismes à un objet dangereux (Rivière, 1998).

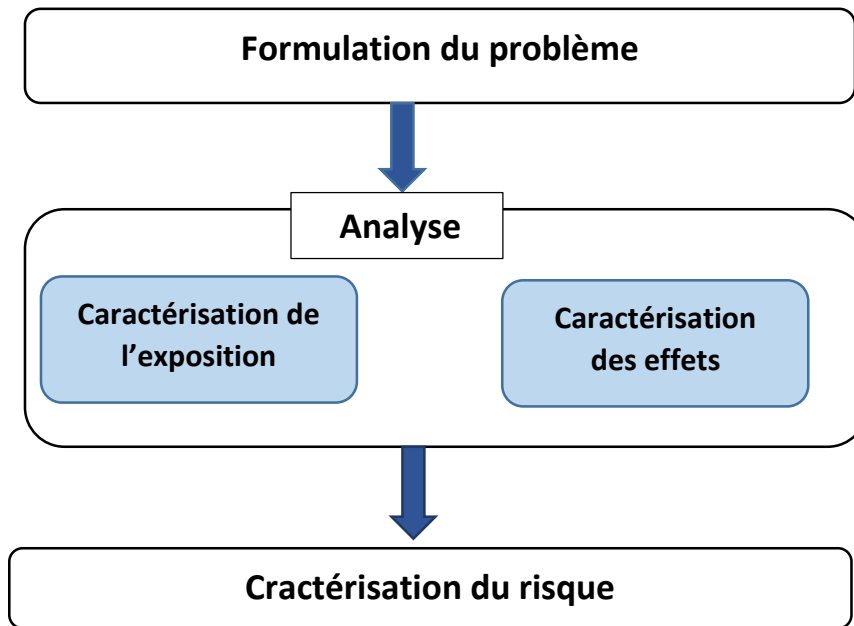
Dans l'étude du risque une importante distinction est établie entre polluant et toxique :

Le toxique est défini par Ramade (1993) comme étant une substance pouvant être absorbée et qui provoque une intoxication des organismes affectés pouvant entraîner la mort. Et le polluant est défini par Moriarty, (1988) *in* Rivière, (1998) comme étant une substance qui se trouve dans l'environnement, au moins en partie comme le résultat des activités humaines et qui a un effet nocif sur les organismes vivants.

### **II.2. Les principes généraux de l'évaluation du risque écologique**

Nombreuses sont les méthodes développées dans le cadre de l'évaluation du risque écologique à l'échelle internationale. La plus connue et la plus utilisée est celle de l'US EPA (United State Environmental Protection Agency) qui a publié en 1998, un guide méthodologique intitulé « Guidelines for Ecological Risk Assessment (ERA) » (Boillot, 2008).

Le schéma classique qui est utilisé par la plupart des auteurs (Suter II, 1993 ; US EPA, 1998 ; Rivière, 1998 ; Emmanuel, 2004 ; Donguy et Perrodin, 2007), pour la conduite de méthodologies de l'évaluation du risque écologique est illustré dans la figure 2. Il comporte trois grandes étapes: la formulation du problème, l'analyse et la caractérisation du risque elle-même (Boillot, 2008).



**Figure 2 :** Principales phases d'une méthodologie générale d'une EDRE (Boillot, 2008).

### II.2.1. La formulation du problème

C'est la phase initiale, qui permet, après diverses recherches et investigations (données disponibles, données à collecter, choix de traceurs de risques, analyses à réaliser, références pour l'interprétation des résultats...), de fixer une feuille de route des actions à mener pour réaliser les 4 étapes de l'ERE (US EPA, 1998 *in* Perrodin et *al.*, 2011).

#### II.2.1.1. Evaluation simplifiée du risque

La procédure d'évaluation simplifiée des risques est fondée sur la méthode des scores. Un site est caractérisé par un certain nombre de facteurs et de paramètres. Chaque facteurs ou paramètre est évalué et noté. Les notes attribuées aux différents facteurs ou paramètres sont ensuite combinées afin de fournir des notes de synthèse finale. Il est cependant important de signaler que ces notes ne sont pas l'expression de la caractérisation précise de l'impact et de l'évaluation absolue des risques (Baroudi, 1997).

Selon Baroudi, (1997), on procède à l'évaluation simplifiée du risque sur la base des informations recueillies précédemment. La finalité de l'évaluation simplifiée des risques est le classement des sites en trois catégories en fonction des suites à envisager:

- **Classe 3:** Les sites « banalisés » : les éléments de décision tirés de l'évaluation simplifiée des risques conduisent, sur la base des données disponibles pour un site et de l'état des connaissances scientifiques et techniques au moment de la réalisation de cette évaluation, à considérer que le site peut être rendu à un usage donné, sans investigations complémentaires ni travaux particuliers.
- **Classe 2:** Les sites « à surveiller » : les sites pour lesquels un doute subsiste, ces sites nécessiteront la définition et la mise en place d'un dispositif de surveillance (piézomètres, campagnes régulières d'analyses...) et, éventuellement, des dispositions de maîtrise d'urbanisme.
- **Classe 1:** Les sites nécessitant un « diagnostic approfondi et une évaluation détaillée des risques » : ces sites font l'objet des investigations et études approfondies (Baroudi, 1997).

### II.2.2. L'analyse

La phase d'analyse comprend deux opérations parallèles, la caractérisation de l'exposition et la caractérisation des effets écologiques. Ces deux phases sont en constante interaction parce que l'évaluateur se trouve confronté à un ensemble de données hétéroclites, cémentaires manquantes, d'autres peu fiables ; un certain degré d'expertise est nécessaire (Rivière, 1998).

Les différents outils d'évaluation découlent de la phase initiale (formulation du problème) que l'on peut mettre en œuvre peuvent être classés en deux grandes catégories (Babut et Perrodin, 2001 ; Bermond, 2002) :

- **Les modèles expérimentaux :** ces modèles visent à reproduire au mieux les conditions du terrain et à observer les conséquences de l'introduction d'une pollution sur les écosystèmes. Pour la durée testée, ils offrent l'avantage du réalisme de l'observation effectuée mais présentent également certains inconvénients, relatés par différents auteurs : leur coût, le délai des études effectuées, les difficultés rencontrées pour contrôler l'ensemble des paramètres des dispositifs expérimentaux complexes mis en œuvre.
- **Les modèles mathématiques :** dont **les modèles statistiques** qui nécessitent de nombreuses données ; de ce fait ils ne sont pas aisément utilisables dans les démarches opérationnelles ; et **les modèles déterministes** qui sont élaborés après une analyse fine des phénomènes physiques, chimiques et biologiques qui peuvent intervenir lors de l'exposition, dans les conditions du scénario, des écosystèmes cibles aux matériaux pollués étudiés.

### II.2.1. Caractérisation de l'exposition

La caractérisation de l'exposition consiste à déterminer les probabilités de contact spatio-temporel entre les stressseurs (le facteur causal) et les « cibles » (récepteurs) (US EPA, 1998). Elle passe donc par l'analyse des sources, des transferts depuis ces sources, et de la distribution des stressseurs dans l'environnement. L'exposition dépend à la fois des concentrations des stressseurs dans les milieux et des caractéristiques et comportements des organismes cibles. 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 (de plusieurs ou d'un ensemble de) valeur(s) de caractérisation de l'exposition. Cette valeur correspond à la concentration du (des) stressseur (s) à laquelle les cibles sont exposés par voie de contact et par ingestion (Suter II, 2006). Dans le cas d'une approche « substances », on parle de la PEC (Predicted Environmental Concentration), alors que dans le cas d'une approche « matrice », on parle du pourcentage de la matrice dans le milieu (Donguy et Perrodin, 2007). Il s'agit dans les deux cas de la concentration que l'on s'attend à trouver dans le milieu suite aux différents apports. Cette détermination peut s'avérer complexe car il faut tenir compte de nombreux facteurs de modification pouvant intervenir dans les voies de transfert : dilution, évaporation, biodégradation, bioaccumulation, caractéristiques de l'écosystème, etc... L'exposition peut également être directe ou indirecte, à long ou à court terme, aiguë ou chronique (Rivière, 1998 ; Record, 2006 ; Donguy et Perrodin, 2006 *in* Boillot, 2008).

### II.2.2.2. Caractérisation des effets

Il s'agit de définir dans quelle mesure les organismes de l'écosystème cible sont significativement sensibles aux stressseurs auxquels ils sont exposés ce qui se traduit par l'expression de la ou des PNEC: Predicted No Effect Concentration (Donguy et Perrodin, 2015).

Cette étape se base principalement sur des approches biologiques qui incluent des bioessais et bioindicateurs. Elle aboutit à l'acquisition de différentes valeurs d'effets écotoxicologiques (NOE, CE20, CE50,...) permettant de calculer la valeur d'absence d'effet significatif vis-à-vis de l'écosystème cible que l'on nomme parfois CSE (Concentration Sans Effet) (Boillot, 2008).

Cette étape de caractérisation des effets peut être réalisée sur site ou en laboratoire. On peut également la conduire sur la base de deux types d'approches : les approches dites « **substances** » et les approches dénommées « **approche matrice** » ou « **approche bioessais** ».

Les approches « **substances** » elles sont basées principalement sur l'utilisation de bases de données internationales. En ce qui concerne les approches « **matrice** » ou « **bioessais** », elles peuvent être réalisées au moyen d'essais mono-spécifiques ou plurispécifiques (Boillot, 2008).

### II.2.3. Caractérisation du risque

Elle consiste à mettre en perspective l'exposition des organismes aux polluants et les effets potentiels induits par ces polluants sur ces mêmes organismes, afin de définir s'il y a risque ou non pour l'écosystème cible. Plusieurs approches plus ou moins complexes sont possibles (Babut *et al.*, 2002 *in* Donguy et Chenon, 2017).

La méthode dite « du quotient » est la plus répandue sur le plan international. Cette méthode consiste à calculer plusieurs quotients tels que le ratio PEC/PNEC (Donguy et Chenon, 2017).

- **PEC** : Predicted Environmental Concentration, obtenue par des modèles d'exposition.
- **PNEC** : Predicted No Effect Concentration, basées sur les données écotoxicologiques.

L'interprétation de ce quotient est laissée à la disposition de l'évaluateur, selon les informations dont il dispose, mais dans son approche la plus simple, elle est la suivante :

Quand ce quotient « R » est :

- **< 1** : On considère que le milieu récepteur n'est pas directement menacé par la substance.
- **>1** : Il existe un risque potentiel pour le milieu récepteur du au rejet de la substance.

Cette méthode est très commode pour une approche règlementaire et opérationnelle, bien que relativement simpliste (Donguy et Chenon, 2017).

Enfin, l'ensemble de ces informations est communiqué au gestionnaire du risque qui prendra sa décision, généralement après une analyse « risque /bénéfice » (Rivière, 1998).

### III. Les tests d'écotoxicité et les bio-essais de laboratoire

Historiquement, les premiers essais de laboratoire visaient à évaluer les effets létaux (effets aigus) ou sublétaux (effets chroniques) d'une substance sur des organismes issus d'une culture ou d'un élevage de laboratoire. Plus récemment, ces essais ont trouvé une application dans l'évaluation de l'écotoxicité de matrices complexes liquides ou solides tels que des effluents, des déchets ou des sols pollués (Volatier, 2004 *in* Boillot, 2008).

### III.1. Notion de bioessai et d'écotoxicité

D'après Colin, (2000), les tests d'écotoxicité et les bioessais de laboratoire sont souvent confondus dans la littérature. Selon la terminologie de Leon et Van Gestel (1994) ces tests sont séparés en :

- **Tests d'écotoxicité :** Les éléments vivants sont exposés aux polluants qui sont présents dans les substrats liquides ou solides du site étudié et qui seront soumis dans des conditions contrôlées du laboratoire.
- **Bioessais :** Ils se rapprochent des conditions du site en exposant les éléments vivants directement aux milieux pollués ou aux extraits aqueux ou organiques de ces milieux, ajoutés aux milieux de culture ou à la ration alimentaire.

Les Bioessais ou tests écotoxicologiques sont des techniques expérimentales réalisées pour identifier le potentiel toxique d'une substance ou d'un mélange de substances par la réponse biologique de l'organisme test, et déterminer les concentrations avec effets ou sans effets (Colin, 2000).

Selon Ramade (2007), les tests biologiques devraient répondre à un ensemble de critères pour être homologués: simplicité, rapidité d'exécution, reproductibilité, sensibilité, représentativité des conditions naturelles, et coûts économiques les plus faibles possibles.

Cependant les bioessais pratiqués en laboratoire ne peuvent refléter les variations spatio-temporelles telles que, les variations de température, de salinité, de lumière et d'oxygène du milieu naturel, pouvant modifier la biodisponibilité et la toxicité des contaminants. Ils permettent seulement d'évaluer « la toxicité potentielle » de la matrice testée (Crane et *al.*, 2000).

Plusieurs essais biologiques ont été réalisés sur des espèces animale, végétales et sur les microorganismes pour évaluer la contamination des sites (Hentati et *al.*, 2013).

### III.2. Les bioessais sur les plantes terrestres

Les végétaux pourraient représenter d'excellents modèles pour analyser les symptômes de toxicité lors d'expositions à des polluants. Ces essais consistent à utiliser des plantes agricoles, maraichères ou fourragères, en les exposant à des matrices polluées. De nombreux paramètres peuvent être mesurés tel que le taux de germination des graines, l'élongation racinaire et la croissance précoce des semis (Vaajasaari et *al.*, 2002).

1. **Test de la germination** : La germination est l'ensemble des événements qui commencent par l'étape cruciale d'absorption de l'eau par la graine et se termine par l'élongation de l'axe embryonnaire et l'émergence de la racine (Mihoub et *al.*, 2005). Le pouvoir germinatif des graines est évalué à l'aide d'un test de germination inspiré des normes internationales en vigueur (International Seed Testing Association, 1999). Il s'agit d'évaluer l'inhibition de la germination des semences mises en contact avec des sols pollués à tester (Vernay et *al.*, 2009).
2. **Test de croissance** : Ce test nous renseigne sur l'effet de différentes concentrations d'une substance toxique sur l'inhibition de la croissance des plantes (Khelif, 2017).

### III.3. Les bioessais sur les vers de terre

Les vers de terre sont utilisés comme organismes modèles pour l'étude des sols pollués en raison de leur forte consommation de la matière organique du sol et de leur contact direct avec les constituants de sol. L'évaluation de l'écotoxicité d'un polluant sur les vers de terre répond à des protocoles qui permettent de définir l'impact de l'absorption orale ou cutanée d'une substance, en termes de mortalité, d'effet sur la croissance ainsi que sur leur capacité de reproduction (Environnement Canada, 2004).

### III.4. Les différentes formes de toxicité

Selon Colin (2000), « la toxicité d'une substance dépend à la fois de son potentiel dangereux et de la cible mise en contact. Classiquement, on sépare la toxicité aiguë de la toxicité chronique ».

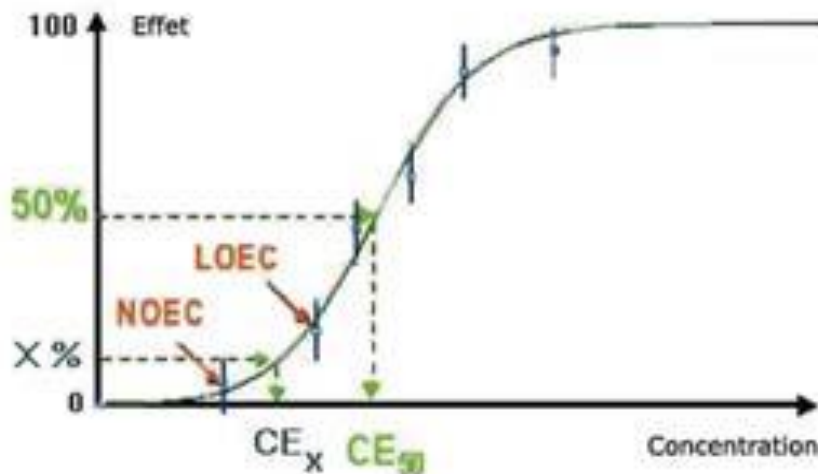
- **La toxicité aiguë** : Elle résulte d'une exposition de quelques minutes ou de quelques heures à quelques jours, à des substances nocives qui entraînent rapidement la mort ou de graves troubles physiologiques au sein de la population exposée.
- **La toxicité chronique** : les tests d'écotoxicité chronique exigent un temps d'exposition plus long, de quelques jours à quelques mois selon l'organisme testé. Elle se traduit par des effets retardés par rapport au début de l'exposition.

### III.5. Interprétation des résultats des tests écotoxicologiques

Le principe général des essais d'écotoxicité consiste à établir des relations concentration-effet-temps pour un système biologique donné (CSE, 1997 ; Rivière, 1995 ; Thybaud, 1996 *in* Colin 2000).

L'évaluation de la relation dose-réponse est le processus qui a pour but de caractériser la relation entre la dose d'une substance administrée ou reçue et la manifestation d'un effet indésirable sur la santé des populations exposées, et d'estimer l'incidence de l'effet en fonction de l'exposition des organismes à cette substance (Record, 2011).

La relation dose-réponse est souvent exprimée sous forme d'une courbe sigmoïde (Fig. 3) établie par une exposition des organismes à des quantités croissantes de polluants (Forbes et Forbes, 1997).



**Figure 3** : Exemple d'une courbe dose réponse (concentration-effet) et valeur remarquables NOEC, LOEC, CE50 (Forbes et Forbes., 1997).

Ces paramètres sont représentatif d'une espèce, des modes d'action et d'entrée des polluants dans l'organisme et du temps de contact avec le polluant (Ramde, 2000 *in* Khelif, 2017). Dans d'autres cas, on cherche à déterminer le seuil des concentrations qui ne provoque aucune toxicité. On recherche alors la concentration à partir de laquelle un effet minimale est significatif (Khelif, 2017). Les seuils de toxicité peuvent être exprimé par:

- **CE<sub>50</sub>** : Concentration efficace d'un polluant qui cause un effet toxique donné chez 50 % des individus après un temps d'exposition.
- **CL<sub>50</sub>**: Concentration d'un polluant toxique qui provoque la mortalité de 50 % des individus.
- **NOEC**: Concentration sans effet observé (No Observed Effect Concentration).
- **LOEC**: Première concentration d'effet (Lowest Observed Effect Concentration).

# **Chapitre II:**

## **Matériels et méthodes**

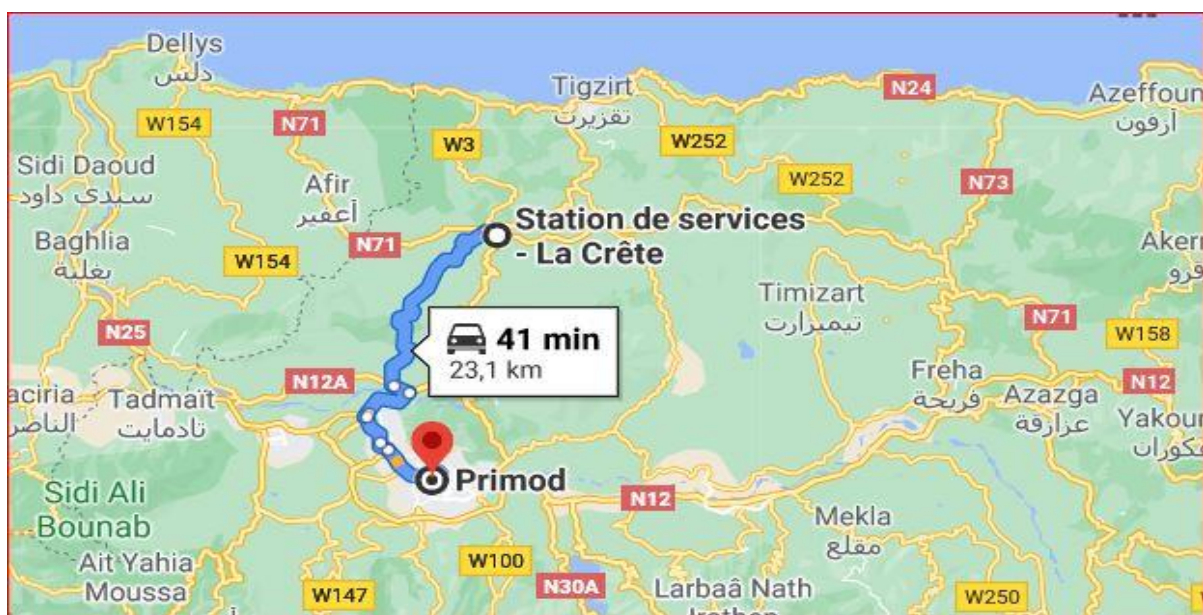


## Chapitre II : Matériels et méthodes

### I. Présentation des sites d'échantillonnages

#### I.1. Station-service Makouda (La Crête)

La station-service de Makouda (crête) est située à 23 km à l'est de chef-lieu de la commune de Tizi Ouzou (fig. 4), sur la route nationale 72, avec une altitude de 735 m, une latitude de  $36^\circ$  et une longitude de  $4^\circ$ . Elle est positionnée sur le bord de la route et destinée principalement à fournir du carburant aux automobilistes et offre aussi d'autres services nécessaires aux véhicules automobiles : boutique d'accessoires automobiles, station de gonflage pneumatique, petites mécaniques de dépannage. Elle propose également des services tels que des toilettes, épicerie, restauration et cafétéria. Créée en 1989, munie de 4 réservoirs souterrains de volume différents : essence super 20 000 L, essence sans plomb 30000 L et deux réservoirs de gasoil 30000 L.

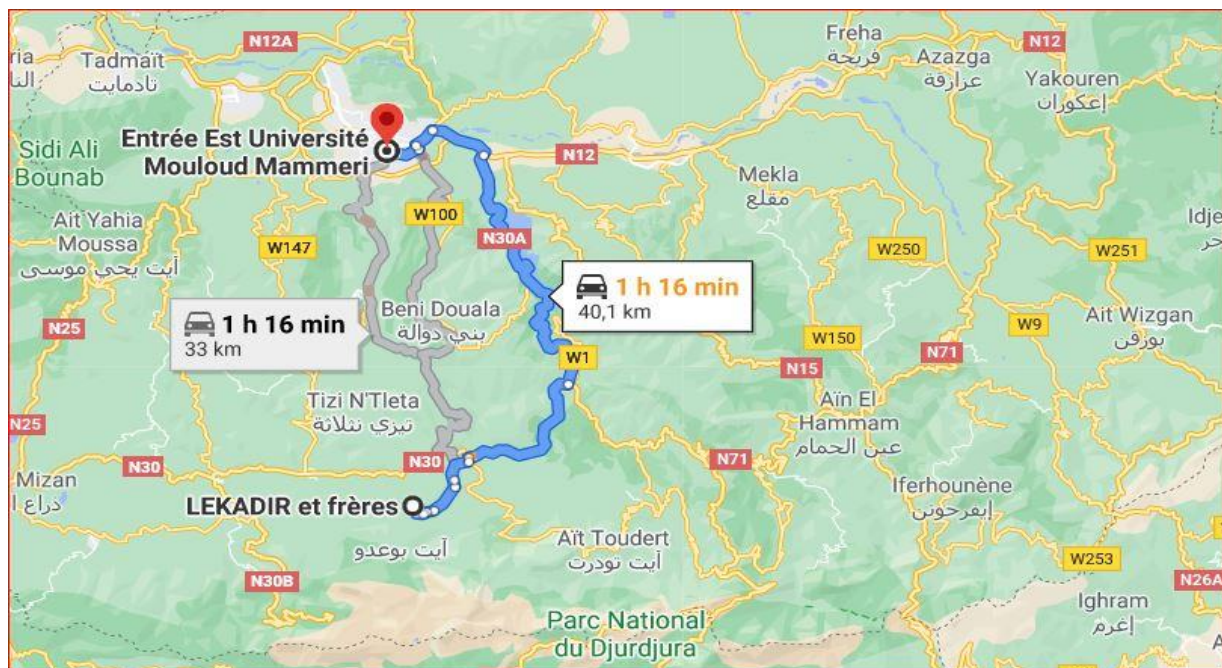


**Figure 4 :** Localisation géographique de la station-service Makouda (Google maps, 2021).

#### I.2. Station-service Ouadhias (Ait Bouaddou)

Créée en 1992, la station-service de Ouadhias (Ait Bouaddou) est située à 40 km au sud de chef-lieu de la commune de Tizi Ouzou (fig. 5). Sur une altitude de 650 m, une latitude de  $36^\circ$  et une longitude de  $4^\circ$ . Elle est positionnée sur le bord d'une route à l'entrée de la commune d'Ait Bouaddou.

Elle est destinée principalement à fournir du carburant aux automobilistes et offre aussi d'autres services nécessaires aux véhicules automobiles comme le lavage de véhicule, station de gonflage pneumatique, petites mécaniques de dépannage. Elle est munie de 3 réservoirs souterrains de volumes différents : un réservoir à Gasoil de 40000 L et deux réservoirs d'essence Super et d'essence sans plomb de 30 000 L chacun.



**Figure 5 :** Localisation géographique de la station-service Ouadhias (Google maps, 2021).

## II. Matériels

### II.1. Le sol

L'étude expérimentale effectuée au niveau de laboratoire, a été réalisée sur des échantillons de sols contaminés et de sols non contaminés issus des deux stations citées précédemment. Le sol non contaminé sera ensuite contaminé artificiellement à différentes concentrations d'un mélange de carburants (essence super, essence sans plomb et gasoil) afin d'être utilisé pour les tests toxicologiques. Concernant le sol contaminé, il sera utilisé pour la réalisation des bioessais.

## II.2. Matériel biologique

### II.2.1. Matériel végétal

L'espèce végétale que nous avons utilisée pour notre expérimentation est le maïs (*Zea mays*). C'est une plante très souvent utilisée dans l'évaluation des sols contaminés par les hydrocarbures du fait de sa croissance rapide, de son coût économique faible. Le choix de cette plante est aussi justifié par le fait que c'est une espèce sensible à la pollution par les hydrocarbures (Chaineau et al., 1997).

### II.2.2. Les vers de terre

Les vers de terre que nous avons utilisés pendant notre expérimentation sont les vers de terre du genre *Eisenia*, souvent appelés vers du fumier. Les adultes de ces espèces mesurent en moyenne 35 à 130 mm de longueur, en moyenne 3 à 5 mm de diamètre, et comptent entre 80 à 110 segments, distingués des jeunes par la présence d'un clitellum (Environnement Canada, 2004).

Le choix s'est porté sur ce genre en raison de leurs disponibilités et leurs abondances sur le terrain d'échantillonnage.

## II.3. Les hydrocarbures

Les hydrocarbures que nous avons utilisés pour la contamination du sol au laboratoire sont un mélange de trois carburants à savoir l'Essence Super, Essence sans plomb et le Gasoil. Ils proviennent des deux stations d'étude, afin de reproduire des conditions qui se rapprochent de la réalité.

Les carburants tels que l'Essence et le Gasoil sont stockés et vendus dans les stations-service. Il s'agit des mélanges complexes d'hydrocarbures pétroliers. Divers additifs sont ajoutés en petites quantités (voire en traces) pour améliorer les propriétés techniques des carburants (Carnicer, 2007).

## III. Méthodes

### III.1. Etude simplifiée de risque (ESP)

L'étude simplifiée du risque est un système de score qui se base sur la nature et les propriétés des substances chimiques et leurs fréquences d'utilisation. C'est une méthode qui permet de classer les sites potentiellement pollués. La méthode que nous avons utilisée est celle décrite par l'INRS (2005). Cette méthode consiste à déterminer des scores selon des matrices pré-

établies. Ceci permet de classer le site selon le score de risque potentiel déterminé à partir du score de danger et d'exposition potentielle.

### III.1.1. Classes de danger

La classe de danger est déterminée en priorité à partir des informations mentionnées dans la fiche de données de sécurité (FDS), ou à défaut sur l'étiquetage. Les classes de danger sont situées dans le tableau suivant :

**Tableau N° 1 :** Classes de danger en fonction de l'étiquetage, des valeurs limitées d'exposition professionnelles et de la nature des agents chimiques émis lors des divers travaux.

Classe de danger	Phrases de risque et combinaisons de phrases	Pictogramme	Valeur de la VLEP	Nature de l'agent chimique *
1	Aucune	Aucun	> 100 mg/m <sup>3</sup>	
2	R36, R37, R38, R36/37, R36/38, R36/37/38, R37/38 R66	 Xi - irritant	>10-100< mg/m <sup>3</sup>	Fer / Céréales et dérivés / Graphite / Matériaux de construction / Talc / Ciment / Matériaux composites / Combustion bois traités / Soudure métaux-plastiques / Vulcanisation / Matières végétales-animales / ...
3	R20, R21, R22 R20/21, R20/22, R20/21/22, R21/22 R33, R34, R40, R42, R43, R42/43 R68/20, R68/21, R68/22, R68/20/21, R68/20/22, R68/21/22, R68/20/21/22 R48/20, R48/21, R48/22, R48/20/21, R48/20/22, R48/21/22, R48/20/21/22 R62, R63, R64, R65, R67, R68	 Xn - nocif	> 1-10< mg/m <sup>3</sup>	Soudure inox / fibres céramiques-végétales / peintures au plomb / meules / sables / huiles d'usinage de coupe / ...
4	R15/29 R23, R24, R25, R29, R31 R23/24, R23/25, R23/24/25, R24/25 R35, R39/23, R39/24, R39/25, R39/23/24, R39/23/25, R39/24/25, R39/23/24/25 R41, R45, R46, R48, R49,	 T - toxique	>0,1-1< mg/m <sup>3</sup>	Bois et dérivés / Plomb métallique/ Amiante et matériaux en contenant / Fonderie et affinage du plomb / Goudrons et brais / Mercure / Essence (carburant) / ...

### III.1.2. Détermination des Classes de quantité

La détermination des classes de quantité de carburants s'effectue sur la base du référentiel temporel de consommation approprié : quotidienne, hebdomadaire, mensuelle, annuelle, ... en prenant la quantité consommée (Qi) de l'agent chimique considéré rapportée à la quantité de l'agent le plus consommé (Q Max).

$$\text{Quotient de quantité} = (Q_i / Q_{\text{Max}}) \times 100$$

Tableau N° 2 : Calcul des classes de quantité.

Classe de quantité	$\frac{Q_i}{Q_{Max}}$
1	< 1 %
2	Entre 1 % et 5 %
3	Entre 5 % et 12 %
4	Entre 12 % et 33 %
5	Entre 33 % et 100 %

### III.1.3. Détermination des classes de fréquence d'utilisation

Pour déterminer les classes de fréquence d'utilisation, le référentiel temporel doit être identique à celui retenue pour la détermination des classes de quantité : journalière, hebdomadaire, mensuel et annuel. Les classes sont déterminées à partir du tableau suivant :

Tableau N° 3 : Détermination des classes de fréquences 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	> 3 jours
Mois	< 1 jour	1-6 jours	6 -15 jours	> 15 jours
Année	< 5 jours	15 jours-2 mois	2 -5 mois	> 5 mois
Classe	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.			

### III.1.4. Détermination de la classe d'exposition potentielle

L'exposition potentielle résulte de la combinaison des classes de quantité et fréquence d'utilisation. Plus la quantité et la fréquence d'utilisation d'un agent chimique sont élevées, plus la probabilité d'exposition de l'individu, est importante. Les classes d'exposition potentielle sont déterminées à l'aide du tableau suivant :

**Tableau N° 4:** Détermination des 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

Le calcul de risque se fait avec la formule suivante :

$$R = 3^{E-1} \times 10^{D-1}$$

E : L'exposition.

D : classe de danger.

### III.1.5. Détermination du score de risque potentiel

Le risque potentiel résulte de la combinaison des classes de danger et d'exposition potentielle. Il traduit la probabilité d'observé un risque compte tenu des conditions générales d'utilisation (quantité, fréquence) d'un agent chimique dangereux.

**Tableau N° 5 :** Détermination du risque potentiel (score HRP).

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

La priorité de prise en compte d'un produit est déterminée à partir de la grille décisionnelle présentée dans le tableau 6.

**Tableau N° 6:** Caractérisation des priorités en fonction du score de risque potentiel par produit.

Score HRP/ produit	Priorité
$\geq 10000$	Forte
100 - 10000	Moyenne
$< 100$	Faible

### III.2. Etude détaillée du risque

L'étude détaillée du risque est une étude approfondie qui vient compléter et/ou vérifier les résultats de l'étude simplifiée du risque. Elle consiste à effectuer des tests toxicologiques et bioessais au laboratoire sur différents organismes tests. Dans notre travail nous avons utilisé des organismes tests animal qui sont les vers de terre, un organisme test végétal qui est le maïs et les microorganismes du sol. Pour pouvoir réaliser ces tests, nous avons prélevé deux types de sol dans chaque station-service; un sol contaminé et un sol non contaminé.

#### III.2.1. Méthode d'échantillonnage

L'échantillonnage du sol dans les deux stations a été réalisé en une seule journée, le 10 mars 2021. Nous avons prélevé deux échantillons différents de sol dans chaque station, d'une quantité de 20 kg chacun.

Nous avons utilisé une méthode d'échantillonnage en diagonale décrite par Pellet et Laville-Timsit, (1993). Après avoir désherbé, nous avons procédé au prélèvement du sol à l'aide d'un cadran de 1 m<sup>2</sup>, à une profondeur de 10 cm, du bout à l'autre du cadran, une partie prise tout en haut, une au milieu et enfin l'autre partie à l'extrémité du cadran.

Le premier échantillon est un sol pollué prélevé dans une parcelle près de la source de pollution qui est situé aux alentours du réservoir destiné à recevoir tous les rejets de la station-service.

Ce sol présente des signes de contamination provoqués par des diversement d'hydrocarbures, et ce à partir d'indices visuels comme la coloration noirâtre et l'odeur prononcée.

Le deuxième est un sol non contaminé prélevé loin de la source de pollution à environ 50 m. Nous avons préalablement désherbé le sol avant de procéder au prélèvement de la quantité nécessaire à notre travail à une profondeur de 10 cm.

Les échantillons ont été transportés au laboratoire dans des sacs en plastiques étiquetés.

### **III.2.2. Préparation du sol**

Le sol échantillonné a été séché à l'aire libre pendant une semaine, en l'étalant sur les paillasses du laboratoire. Après le séchage le sol a été broyé et tamisé à l'aide d'un tamis de 5 mm de diamètre.

### **III.2.3. Contamination du sol**

Pour pouvoir reproduire cette contamination au laboratoire, nous avons estimé le volume moyen de carburant servis chaque jour dans les deux stations.

La station de Makouda sert en moyenne : 5 volumes de Gasoil, 1 volume d'Essences Super et 1 volume d'Essence sans plomb. Quant à la station de Ouadhias, elle sert en moyenne : 15 volumes de Gasoil, 1 volume d'Essences Super et 1 volume d'Essence sans plomb (**Annexe XIX**).

A la base de ces estimations nous avons calculé différentes concentrations qui sont les suivantes : C<sub>1</sub> (1%), C<sub>2</sub> (2%), C<sub>3</sub> (3%), C<sub>4</sub> (4%) aux quelles correspondent des quantités de carburants provenant des deux stations faisant objet de polluants. Les tableaux suivants représentent les quantités des carburants pour chaque concentration :

**Tableau N° 7 :** Les quantités des carburants de la station Makouda pour chaque concentration.

concentrations carburants	0%	1%	2%	3%	4%
Essence super	0 g	2,1 g	4,2 g	6,3 g	8,4 g
Essence sans Pb	0 g	2,1 g	4,2 g	6,3 g	8,4 g
Gasoil	0 g	10,5 g	21 g	31,5 g	42 g

**Tableau N° 8:** Les quantités des carburants de la station Ouadhias pour chaque concentration.

concentrations carburants	0%	1%	2%	3%	4%
Essence super	0 g	0,75 g	1,5 g	2,25 g	3 g
Essence sans Pb	0 g	0,75 g	1,5 g	2,25 g	3 g
Gasoil	0 g	13,2 g	26,4 g	39,6 g	52,8 g

Le sol non contaminé a été divisé en 10 lots de 1500 g chacun (5 lots pour chaque stations). On a procédé à la contamination de ce sol avec les différentes concentrations C<sub>0</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>. Ces lots vont être utilisés pour la réalisation des tests toxicologiques. Le sol pollué provenant des deux stations (SS) va être utilisé pour la réalisation des bioessais. La figure 6 représente un dispositif expérimental des tests toxicologiques et bioessais.

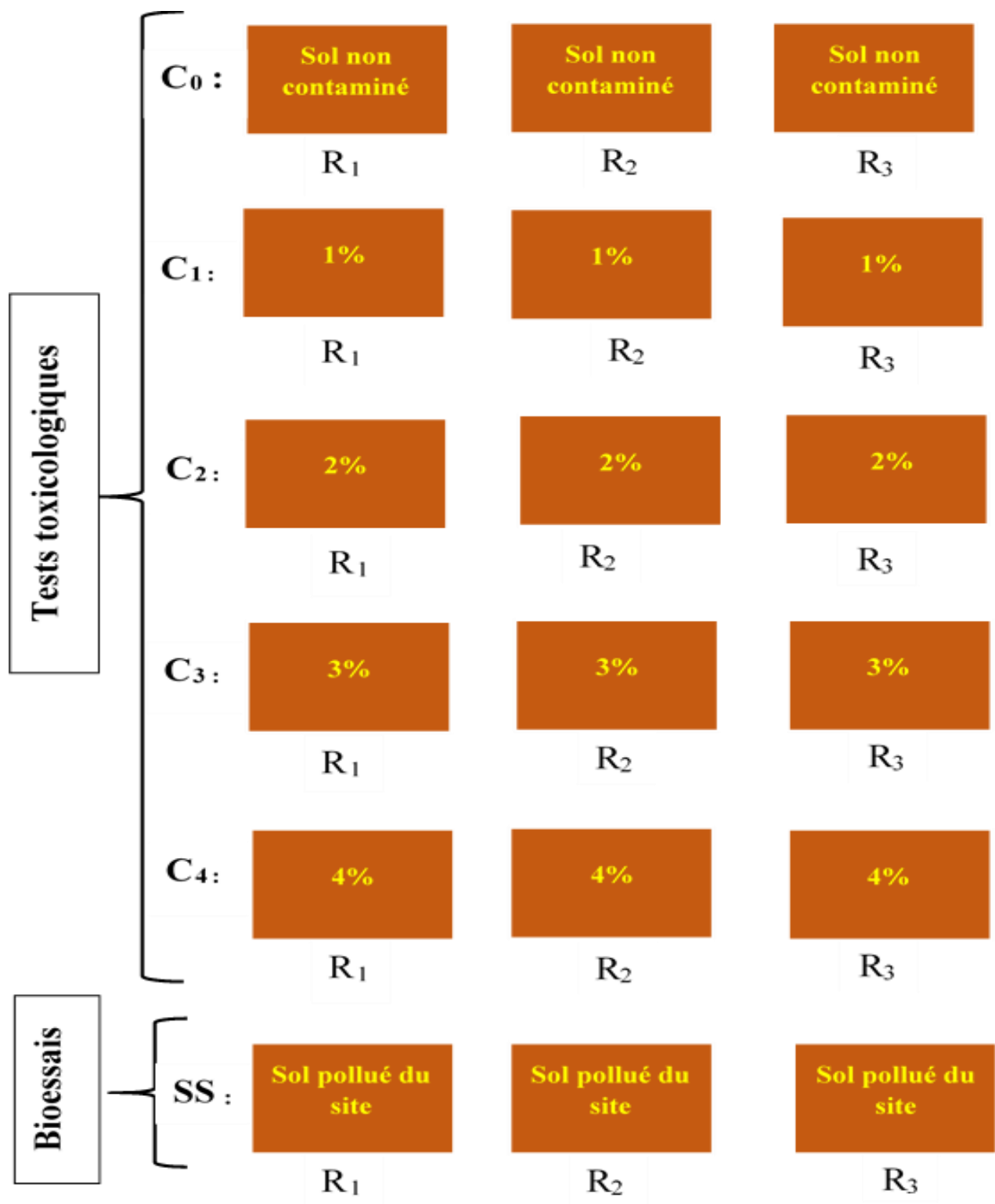


Figure 6 : Dispositif expérimental des tests toxicologiques et bioessais.

### III.2.4. Réalisation des tests de toxicités et de bioessais

Beaucoup d'êtres vivants animaux, végétaux et microorganismes, pourraient représenter d'excellents modèles pour analyser les symptômes de toxicité lors d'exposition à des hydrocarbures. En particulier, l'action des hydrocarbures sur le métabolisme de ces êtres vivants peut être décelée de manière précoce par son effet sur la germination des graines et sur la croissance pour les végétaux, son effet sur la croissance et la survie de certaines espèces animales et son effet sur la respiration microbienne et l'activité enzymatique des microorganismes du sol (Souza et *al.*, 2011). De ce fait nous avons procédé à réalisation des tests suivants :

#### III.2.4.1. Tests toxicologiques et bioessais sur le maïs

Des tests sur des plantes terrestres sont considérés comme des outils polyvalents permettant de mettre l'accent sur des réponses précoces chez les plantes test exposées aux polluants (Petersen et *al.*, 2003 ; Fjallborg et Dave, 2004 *in* Khelif, 2017). Différents paramètres peuvent être ainsi évalués comme critère de toxicité suite à l'exposition des plantes aux contaminants ; tels que la germination des graines, l'élongation racinaires et la croissance des semis.

##### III.2.4.1.1. Test de germination

Les sols précédemment préparés (C<sub>0</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> et sol pollué du site) ont été utilisés pour semer des graines de maïs dans des boîtes de pétris à raison de cinq graines par boîte contenant 100 g de sol chacune, soit six modalités. Pour chaque modalité, trois répétitions ont été réalisées soit 18 dispositifs pour chaque station, ce qui fait au total 36 échantillons.

Ces cultures sont ensuite soumises à des conditions contrôlées en température et en humidité en les plaçant dans un incubateur à 20 °C pendant toute la période de germination. Un arrosage régulier est apporté à ces cultures.

Après 15 jours de semis, nous avons dénombré le nombre de graines germées afin d'évaluer l'inhibition de la germination des graines mises en contact avec des sols pollués.

Le taux de germination est calculé comme suit :

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

### III.2.4.1.2. Tests de croissance

#### III.2.4.1.2.1: Elongation racinaire

Nous avons effectué deux mesures sur la racine principale de chaque plante, à l'aide d'une règle graduée. La première mesure a été prise le 7<sup>ème</sup> jour après le semis, la deuxième mesure a été prise le 15<sup>ème</sup> jour.

L'élongation racinaire, qui indique la croissance de la racine, a été calculée de la manière suivante :

$$\text{Longueur racinaire (cm)} = 2^{\text{ème}} \text{ mesure} - 1^{\text{ère}} \text{ mesure}$$

#### III.2.4.1.2.2. Biomasse aérienne et Biomasse racinaire

Après deux semaines, la plantule la plus robuste issue de la germination des graines de chaque dispositif a été choisie pour ensuite être replanter dans des pots en plastique contenant 200 g du même type de sol. Après 4 semaines de croissance, nous avons séparé la partie aérienne de la partie racinaire de chaque plante. Une fois séchée à l'air libre, la partie aérienne ainsi que la partie racinaire ont été pesées séparément à l'aide d'une balance de précision.

### III.2.4.2. Test de toxicité sur les vers de terre

Selon ISO 17512-1 et 2, les vers de terre sont utilisés comme animaux de laboratoire dans les expériences sur la toxicité des sols, leur utilisation est approuvée comme méthode d'essai standard. La méthode utilisée dans notre expérimentation sur les vers de terre est celle de Winqvist et *al*, (2014), elle s'agit d'un essai visant à déterminer la concentration létale (CL<sub>50</sub>) de différents échantillons de sol contaminés par des différentes concentrations d'hydrocarbures (C<sub>0</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>), selon le processus expliqué en page 25, et une concentration nommée (SS) qui correspond au sol pollué prélevé sur le site. Auxquels nous avons exposé une population de vers de terre adultes du genre *Eiseinia* pendant 14 jours.

Dans cette expérience, nous avons utilisé des boîtes en plastique munies de couvercles perforés, dans lesquelles nous avons mis 100 g de chaque type de sol, en raison de trois répétitions pour chaque concentration. Nous avons ensuite introduit dans chaque boîte cinq individus de vers de terre, dont on a pris le poids.

Pour pouvoir évaluer l'effet des différentes concentrations sur les populations de vers de terre nous avons surveillé le poids des individus et leurs mortalité durant les trois premiers jours :

24h, 48 h et 72 h. Une autre prise de poids et de mortalité a été effectuée à la fin de l'expérience (14<sup>ème</sup> jour).

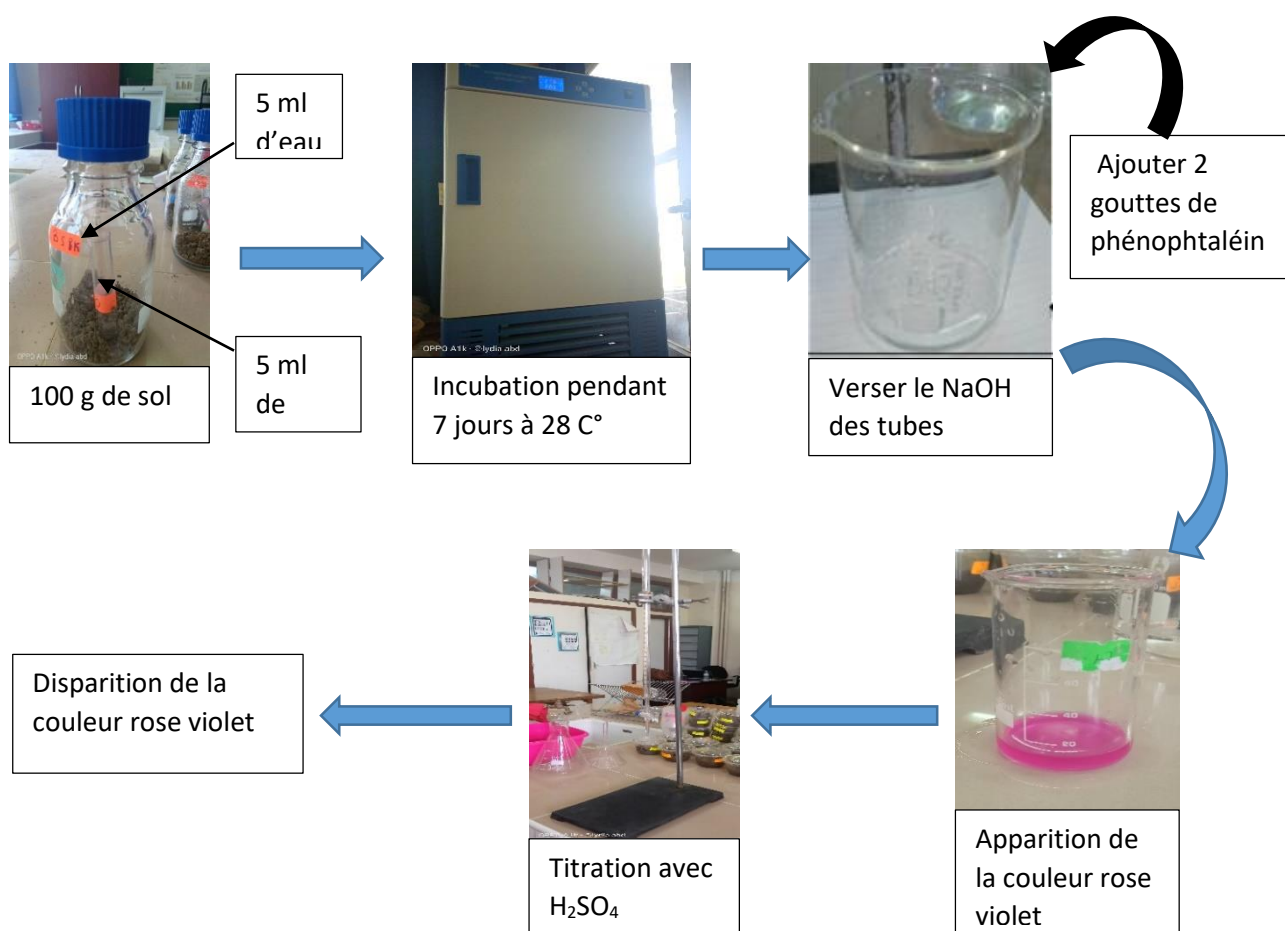
### **III.2.4.3. Tests de toxicité sur les microorganismes**

#### **III.2.4.3.1. L'activité biologique**

L'activité biologique globale (C-CO<sub>2</sub> dégagé) du sol a été évaluée par la méthode du test respirométrique, par piégeage de CO<sub>2</sub> dans la soude décrite par Dommergues, (1968).

Cette méthode consiste à une incubation des échantillons de sol durant une période de 7 jours à une température constante de 28 C°. Des échantillons de sol (100 g) de chaque concentration ont été placés dans des flacons de 250 ml avec trois répétitions R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>.

Nous avons introduit dans chaque flacon deux tubes à hémolyse contenant, l'un 5 ml d'une solution de NAOH à 0,5 N et l'autre 5 ml d'eau pour humidifier le sol. Les flacons sont fermés hermétiquement pour éviter la fixation du CO<sub>2</sub> de l'air, ils sont ensuite introduits dans l'incubateur. Après 7 jours d'incubation, la soude contenue dans chaque flacon est récupérée dans un bécher, deux gouttes de phénolphaléines ont été ajoutées pour obtenir une couleur rose violacée (indicateur coloré). Cette solution a été titrée par l'acide sulfurique à 0,25 N jusqu'à la disparition de la couleur rose violacée marquant la fin de la titration (fig. 7).



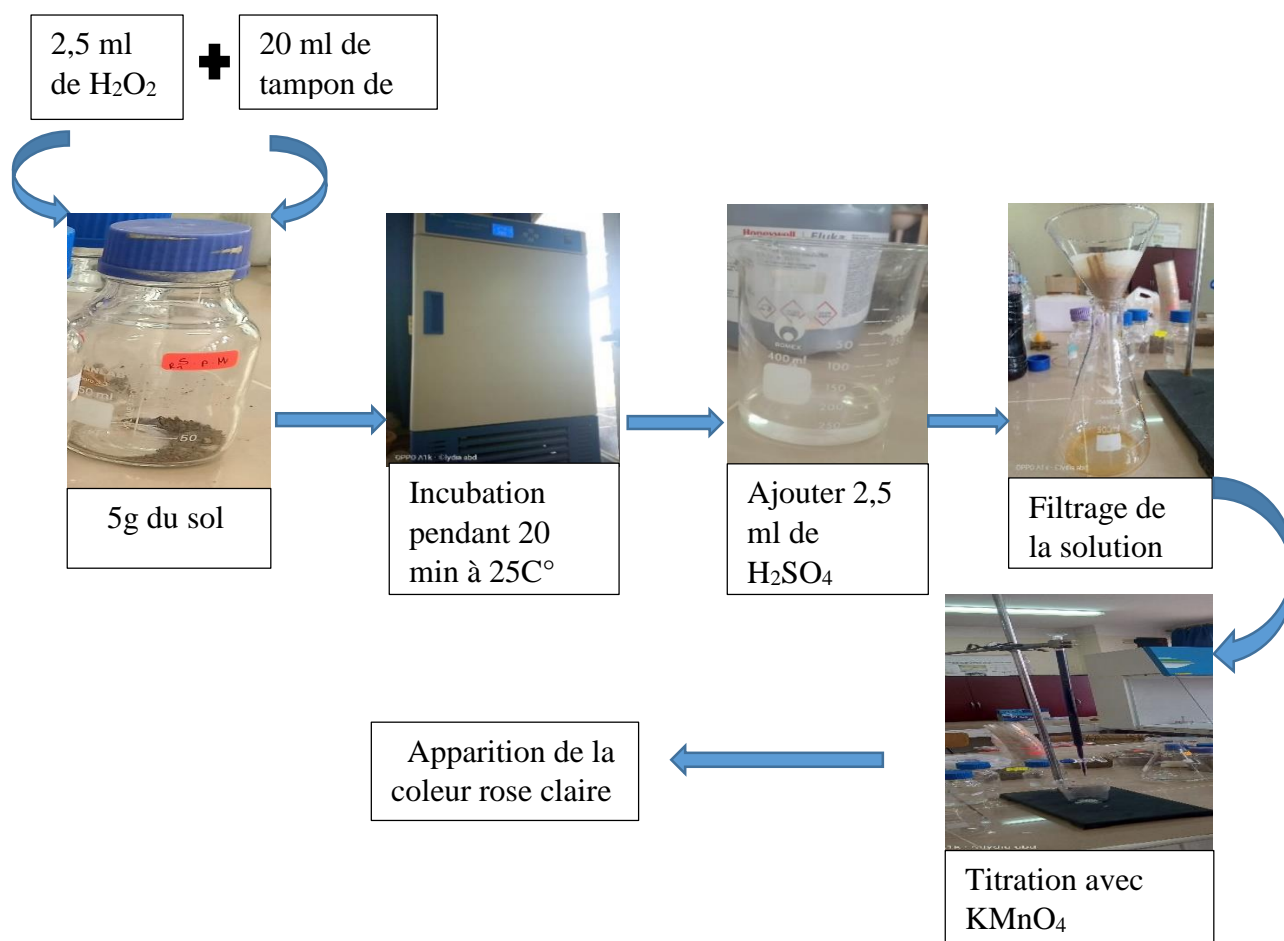
**Figure 7 :** Protocole expérimental pour l'évaluation de l'activité biologique du sol.

### III.2.4.3.2. L'activité de la catalase (CAT)

La catalase est une enzyme qui catalyse la réaction de dégradation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène et est présente chez tous les organismes aérobies (Pichaud, 2005).

Selon la méthode de Guan (1986) citée par Liu *et al.* (2014), une quantité de 5 g de chaque type de sol a été pesé et placé dans des flacons. Nous avons ajouté pour chaque échantillon de sol 2,5 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 0,3% et 20 ml de tampon de phosphate (ph=7).

Les mélanges réactionnels ont été placés dans un incubateur à 25 C° pour une durée de 20 min. Nous avons ajouté 2,5 ml de 3,0 mol/L d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> afin d'arrêter la réaction, le mélange a été ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat obtenu il a été titré par une solution de KMnO<sub>4</sub> à 0,02 mol/L jusqu'à le virement à la couleur rose, ce qui indique la fin de la titration (fig. 8).

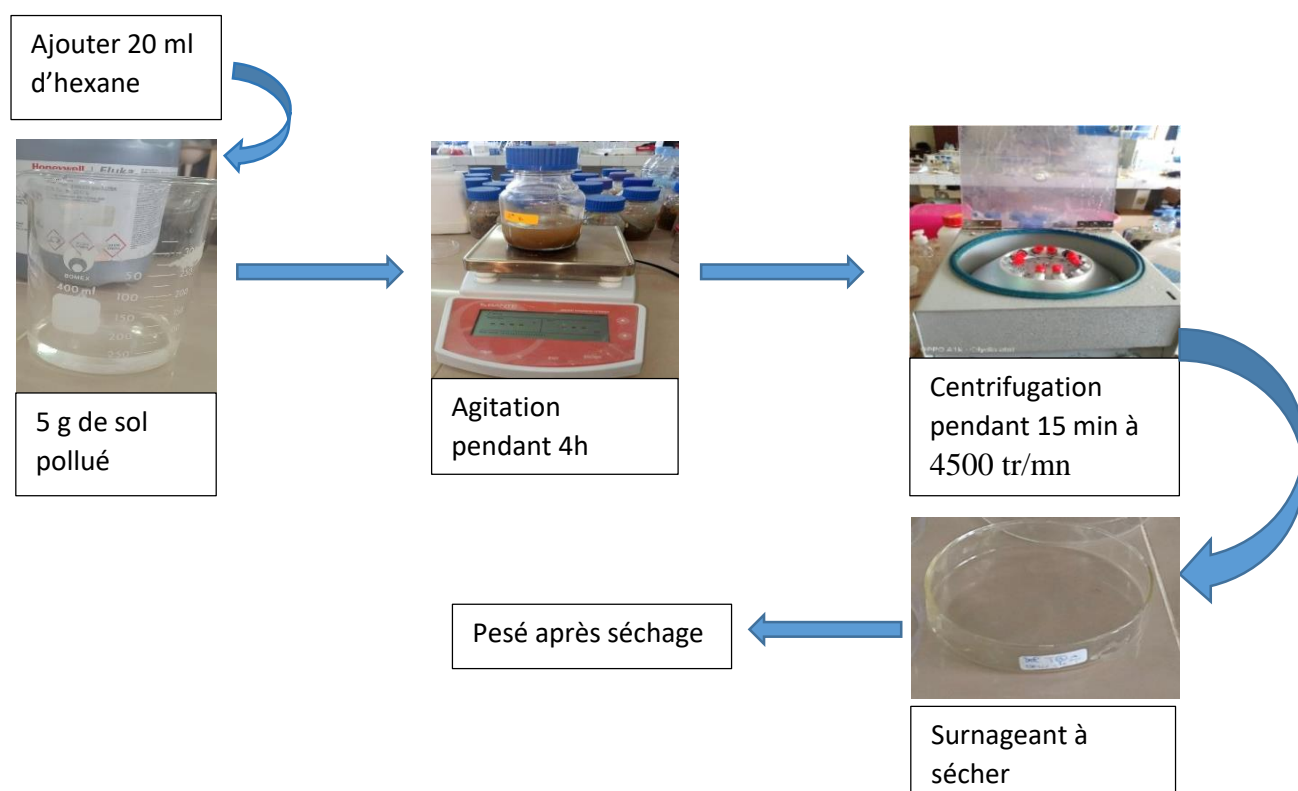


**Figure 8** : Protocole expérimental du dosage de la catalase.

### III.3. Quantification des hydrocarbures

Afin d'extraire les hydrocarbures contenant dans les sols pollués qui provient des deux stations d'échantillonnage, nous avons ajouté 20 ml d'hexane à des flacons qui contient 5 g de sol de ces dernier. Les solutions obtenues sont soumis à une agitation mécanique pendant 4 heures.

Après 15 min de centrifugation à 4500 tr/mn, le liquide surnageant été récupéré et versé dans des boite pétri et laissé à l'aire libre jusqu'à l'évaporation du solvant. La quantité des hydrocarbures qui existe dans le sol est obtenue à la fin par la pesée (fig. 9).



**Fig. 9** : Protocole expérimental de l'extraction des hydrocarbures.

#### III.4. Méthodes d'analyse statistique

Le traitement des résultats obtenus a été réalisé avec le logiciel R. 4. 1.0. Différents tests ont été réalisés pour faire apparaître les différences significatives ( $p < 0.05$ ) à travers les différents niveaux de contamination de sol.

Les résultats de l'effet des différentes concentrations de carburant sur les végétaux, les vers de terre et les microorganismes ont été soumis au test de l'anova après que la normalité est vérifiée et que le test de Levene indique une différence significative. Dans le cas où la normalité ou l'égalité des variances n'est pas vérifiée, les résultats sont soumis au test de Kruskal-Walis.

Le test de Newman et Keuls ou son équivalent non paramétrique, permet la détermination des groupes homogènes lorsque les différences sont significatives entre les moyennes.

Les résultats de la quantification des hydrocarbures des deux sols pollués des sites ont été soumis au test de Student ou à son équivalent non paramétrique ; test de Mann-Whitney, lorsque la normalité n'est pas vérifiée.

# **Chapitre III:**

## **Résultats et discussions**

## Chapitre III : Résultats et discussion

### I. Résultats

L'objectif de notre travail est d'évaluer le risque écologique dans deux stations-service en utilisant des tests écotoxicologiques et bioessais. De ce fait des batteries d'essais ont été réalisées en laboratoire sur des sols provenant de deux stations-service.

#### I.1. Evaluation simplifiée du risque (ESR)

Une étude simplifiée du risque a été effectuée avec les données collectées au niveau des deux stations concernant la quantité et la fréquence des différents hydrocarbures desservit. Ces données sont mentionnées dans l'annexe **XIX**.

Les résultats de cette étude sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau N° 9:** Tableau englobant les résultats de l'évaluation simplifiée du risque des deux stations Makouda et Ouadhias.

Stations Classes	Makouda	Ouadhias
Classe de danger	4	4
Classe de quantité	5	5
Fréquence d'utilisation	4	4
Classe d'exposition	5	5
Risque « R »	R= 99712,20	R= 99712,20
Risque potentiel	100000	100000
Priorités	Forte	Forte

D'après le tableau N° 1 en page 18, la classe de danger concernant les produits desservit dans les stations-service à savoir les carburants est de classe **4**. Il s'agit donc de la catégorie des produits très toxiques.

Le calcul suivant nous a permis de déterminer la classe des quantités des deux stations :

$$Q_i/\text{Max} \times 100$$

✓ **Station Makouda :**

Gasoil :  $14000/20315 = 68,91\%$

Essence super :  $1900/3868 = 49,12\%$

Essence sans plomb :  $2050/4051 = 50,60\%$

✓ **Station Ouadhias :**

Gasoil :  $15000/18000 = 83,3\%$

Essence super :  $1000/1200 = 83,3\%$

Essence sans plomb :  $1000/1200 = 83,3\%$

En se référant au tableau N° 2 en page 19 et selon les résultats de  $Q_i/\text{Max}$  obtenues, les deux stations se situent entre 33% et 100%, ce qui correspond à la classe de quantité **5**.

En utilisant le tableau N° 3 en page 19, nous avons constaté que la fréquence d'utilisation est permanente, étant donné que ces stations fonctionnent plus de 6 h par jours, plus de 3 jours par semaine, plus de 15 jours par mois et durant les 12 mois de l'année. Ce qui correspond à la classe **4**.

Les classes d'exposition potentielle ont été déterminées à l'aide du tableau N° 4 en page 20. En combinant la classe de quantité et la fréquence d'utilisation, nous avons constaté que les deux stations se placent dans la classe d'exposition potentielle **5**.

Selon le tableau N° 5 en page 20, le risque potentiel qui résulte de la combinaison des classes de danger et d'exposition potentielle des deux stations est très élevé (100000) les situant ainsi dans la zone rouge (>10000) qui est une zone à fort risque.

La priorité de prise en compte d'un produit est déterminée à partir de la grille décisionnelle présenté

Le tableau N° 6 en page 21 place les deux stations comme des sites à forte priorité. De ce fait, des investigations et des analyses plus poussées doivent être effectuées afin de confirmer ce résultat.

**I.2. Caractéristiques physico-chimiques du sol des deux sites d'étude**

D'après les analyses effectuées au laboratoire de pédologie de l'INRF de Bainem, le sol des deux stations présente les caractéristiques consignées dans les tableaux N° 10 et N° 11 :

**Tableau N° 10** : Caractéristiques des sols prélevés dans la station-service de Makouda.

Caractéristiques	Sol non contaminé	Sol contaminé
pH	5,91	6,35
Calcaire total	3,50	18,15
C/N	08	14
CE (mmhos /cm)	0,271	0,152
CO (%)	2,63	4,32
MO (%)	4,53	7,44
Azote total (%)	0,315	0,315
Humidité (%)	2,24	1,77
Texture	Sableuse	Sableuse

- ✓ Les analyses physico- chimiques montrent que le sol contaminé et non contaminé du site de Makouda sont de texture sableuse.
- ✓ Les deux sols, contaminé et non contaminé sont faiblement acide.
- ✓ Le sol contaminé présente une forte teneur en calcaire, tandis que le sol non contaminé présente une faible teneur en calcaire.
- ✓ Concernant la salinité, les résultats de CE montrent que les deux sols ne sont pas salés.
- ✓ Le sol contaminé est plus riche en matière organique (MO) et en carbone organique (CO) comparativement au sol non contaminé.
- ✓ Le sol contaminé présente un rapport C/N élevé, tandis qu'il est moins élevé dans le sol non contaminé.
- ✓ Les deux sols présentent le même taux d'azote, concernant l'humidité, elle est plus élevée dans le sol non contaminé que dans le sol contaminé.

**Tableau N° 11** : Les caractéristiques des sols prélevés dans la station-service de Ouadhias.

Caractéristiques	Sol non contaminé	Sol contaminé
pH	7,98	7,77
Calcaire total	4,87	0,50
C/N	9	19
CE (mmhos /cm)	0,16	0,244
CO (%)	1,56	3,94
MO (%)	2,78	6,78
Azote total (%)	0,25 %	0,21 %
Humidité (%)	5,58	2,52
Texture	Argileuse	Sableuse

- ✓ Les analyses physico-chimiques montrent que le sol non contaminé est de texture argileuse et le sol contaminé du site de Ouadhias est de texture sableuse.
- ✓ Les deux sols, contaminé et non contaminé sont légèrement alcalins.
- ✓ Le sol non contaminé présente une forte teneur en calcaire, tandis que le sol contaminé présente une faible teneur en calcaire.
- ✓ Concernant la salinité, les résultats de CE montrent que les deux sols ne sont pas salés.
- ✓ Le sol contaminé est plus riche en matière organique (MO) et en carbone organique (CO) comparativement au sol non contaminé.
- ✓ Le sol contaminé présente un rapport C/N élevé, tandis qu'il est moins élevé dans le sol non contaminé.
- ✓ Les deux sols présentent presque le même taux d'azote, concernant l'humidité, elle est plus élevée dans le sol non contaminé que dans le sol contaminé.

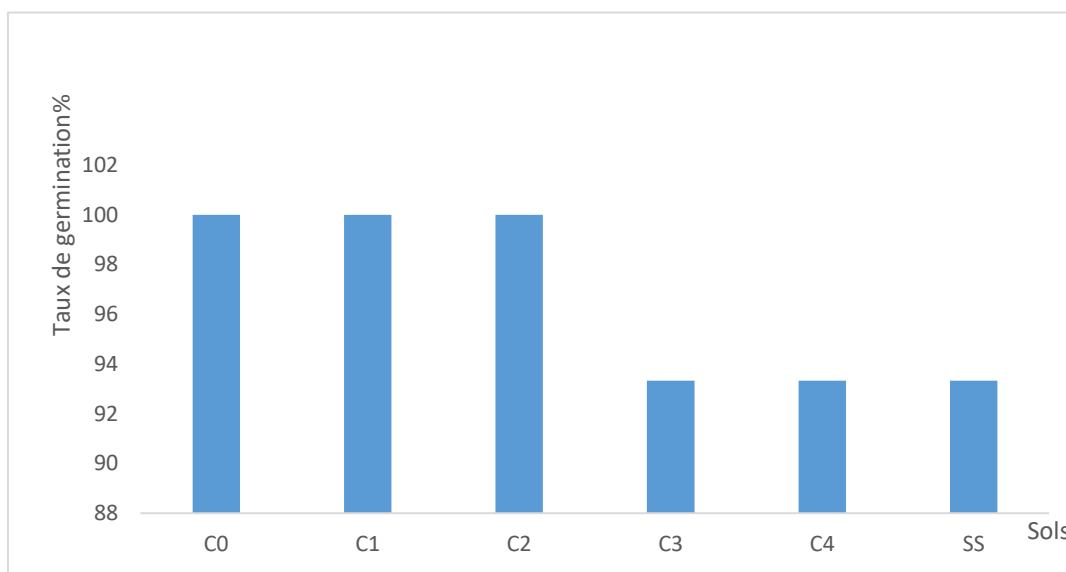
### I.3. Les tests écotoxicologiques et bioessais

#### I.3.1. Test de germination

##### a. Station de Makouda

Le pourcentage des graines germées dans le sol de Makouda est illustré dans la figure 10.

Pour les trois premières concentrations  $C_0$ ,  $C_1$  et  $C_2$  le taux de germination enregistré est à 100%. Pour les concentrations  $C_3$ ,  $C_4$  et SS nous avons enregistré un taux de germination plus faible qui est de 93%.



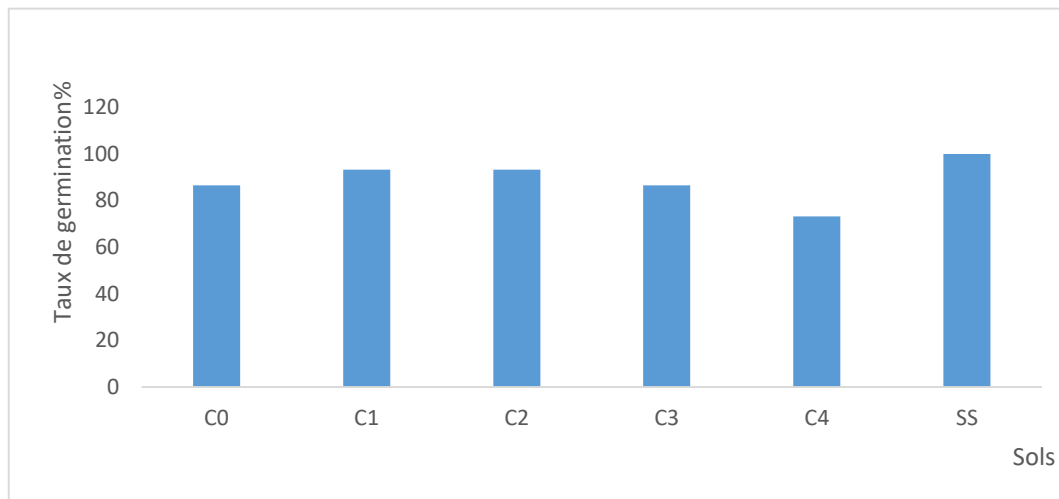
**Figure 10:** Taux de germination des graines de maïs dans le sol de Makouda.

Le test de Kruskal-Wallis (Annexe II), pour l'effet des différentes concentrations sur la germination du maïs, indique qu'il n'y a pas de différences significatives entre la germination à différentes concentrations de carburants, avec une  $p$ -value=0,514. Ceci signifie que la germination n'a pas été influencée par les concentrations des carburants.

##### b. Station de Ouadhias

Les pourcentages de graines germées dans le sol de Ouadhias est illustré dans la figure 11.

On remarque des taux de germinations différents mais plus au moins rapprochés, avec le même taux dans le sol  $C_0$  et  $C_3$  (86,66%) et un taux similaire entre  $C_1$  et  $C_2$  (93,33%). Tandis qu'un taux moins élevé pour la concentration  $C_4$  (73,33%) et un taux des plus élevés (100 %) enregistré dans la concentration SS



**Figure 11:** Taux de germination des graines de maïs dans le sol de Ouadhias.

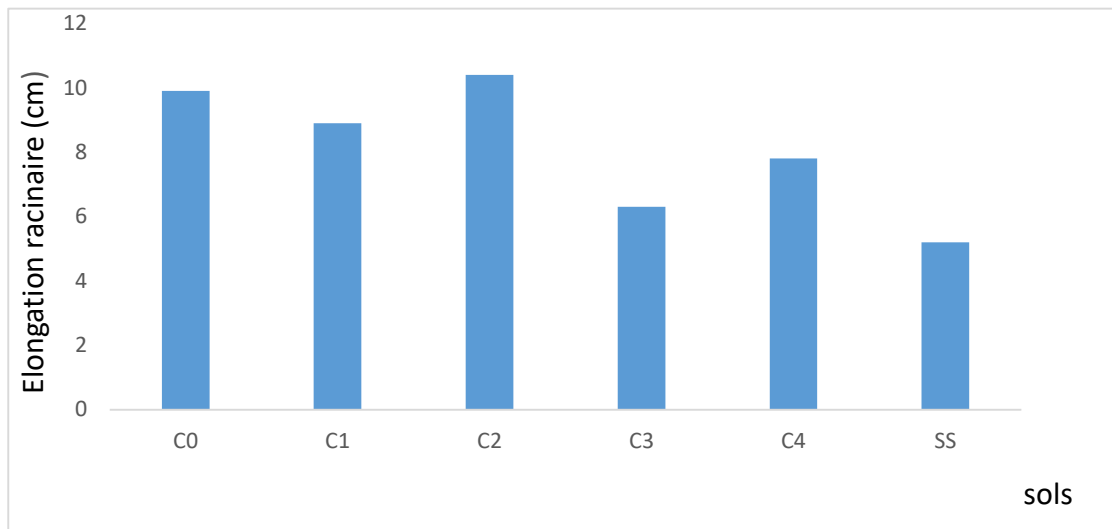
Les résultats du test de Kruskal-Wallis (**Annexe III**) ont révélé qu'il n'y a pas de différence significative entre la germination et les différentes concentrations du carburants ( $p$ -value=0,4758). Cela signifie que ces concentrations n'ont pas d'effet sur la germination des graines de maïs.

### **I.3.2. Elongation racinaire**

#### **a. Station de Makouda**

Les résultats de l'élongation racinaire du maïs dans le sol d'Ouadhias, obtenues après 14 jours sont représentés dans la figure 12.

Nous constatons que l'élongation racinaire en 14 jours est plus importante dans le sol C<sub>2</sub> qui atteint une moyenne de 10,4 cm et C<sub>0</sub> qui atteint une moyenne de 9,9 cm. Concernant les sols C<sub>1</sub>, C<sub>3</sub> et C<sub>4</sub>, l'élongation est moins importante elle varie entre 8,9 cm à 6,3 cm. L'élongation racinaire la plus faible est observée dans le sol pollué de la station (SS) avec une moyenne de 5,2 cm qui est proche de la moyenne du sol C<sub>3</sub> (6,3 cm).



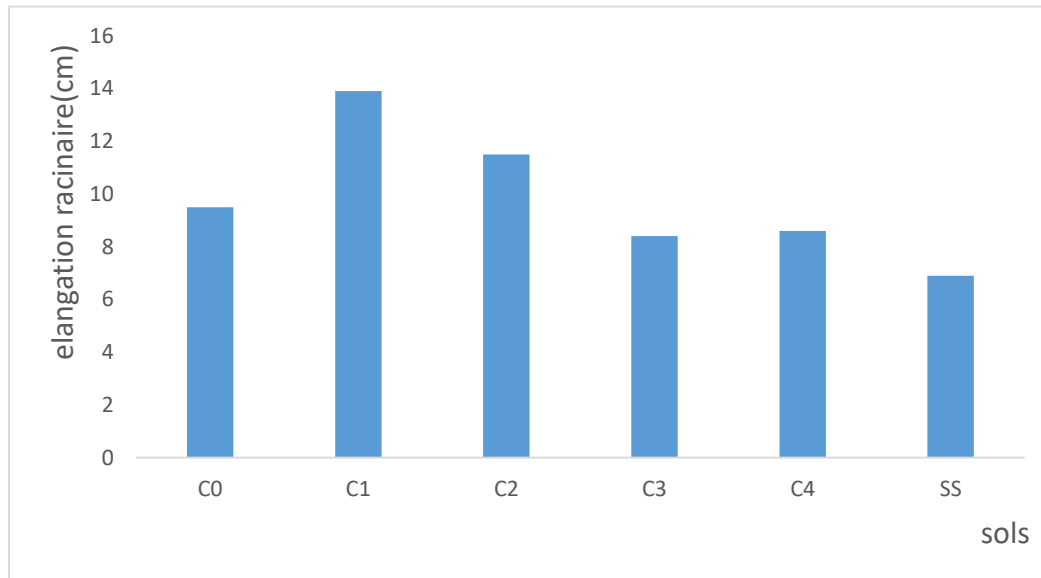
**Figure 12 :** Elongation racinaire de maïs dans le sol de Makouda.

Après que la normalité soit vérifiée par le test de Shapiro-Wilk, et que l'égalité des variances soit vérifiée par le test de Levene, l'analyse de la variance (**Annex IV**) a été appliquée et a révélé qu'il n'y avait pas de différence significative ( $p\text{-value}=0,1957$ ), ce qui démontre qu'il n'y a pas eu d'effet des concentrations des carburants sur l'élongation racinaire des plantes de maïs.

#### **b. Station de Ouadhias**

Les résultats de l'élongation racinaire du maïs dans le sol d'Ouadhias, obtenues après 14 jours sont représentés dans la figure 13.

Nous constatons que l'élongation racinaire est plus importante dans le sol C<sub>1</sub> qui atteint une moyenne de 13,9 cm et C<sub>2</sub> qui atteint une moyenne de 11,5 cm. Concernant les sols C<sub>0</sub>, C<sub>3</sub> et C<sub>4</sub> l'élongation est moins importante elle varie entre 9,5 cm à 8,4cm. L'élongation racinaire la plus faible est observée dans le sol pollué de la station (SS) avec une moyenne de 6,9 cm qui se rapproche de la moyenne du sol C<sub>3</sub>.



**Figure 13 :** Elongation racinaire de maïs dans le sol d'Ouadhias.

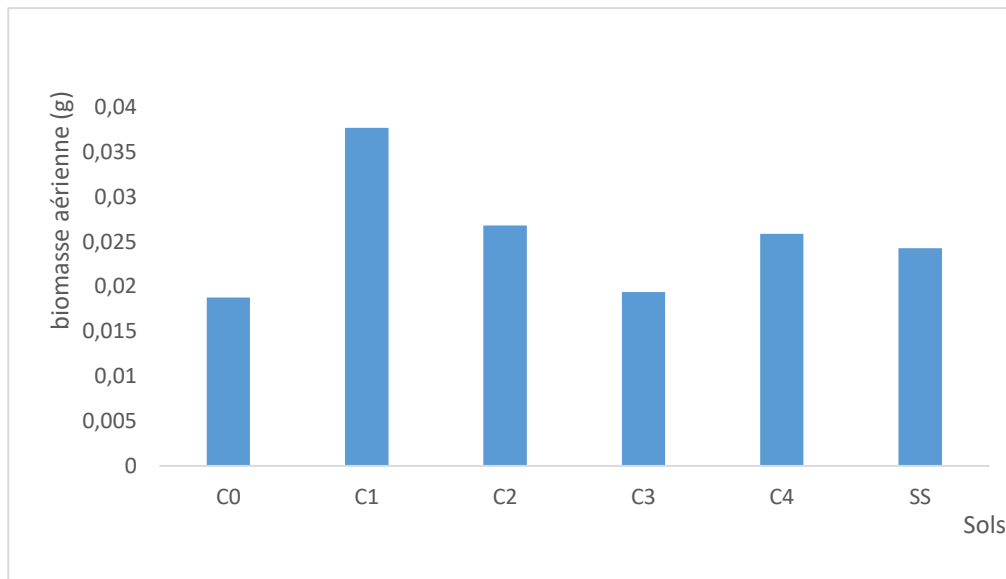
L'analyse de la variance (**Annexe V**) indique qu'il n'y a pas de différence significative ( $p$ -value=0,2518) ce qui montre qu'il n'y a pas eu d'effet des concentrations de carburants sur l'élongation racinaire des plantes de maïs.

### **I.3.3. Biomasse aérienne**

#### **a. Station Makouda**

La figure 14 représente la biomasse aérienne moyenne des plantes du maïs cultivées dans le sol de Makouda.

La plus grande masse aérienne est enregistrée dans le sol de concentration  $C_1$  avec une moyenne de 0,0377 g. Des valeurs plus ou moins égales sont enregistrées dans les sols des concentrations  $C_2$  (0,0268 g),  $C_4$  (0,0259 g), SS (0,0243 g). Tandis que la valeur la plus faible est enregistrée dans le sol de la concentration  $C_0$  (0,0188 g).

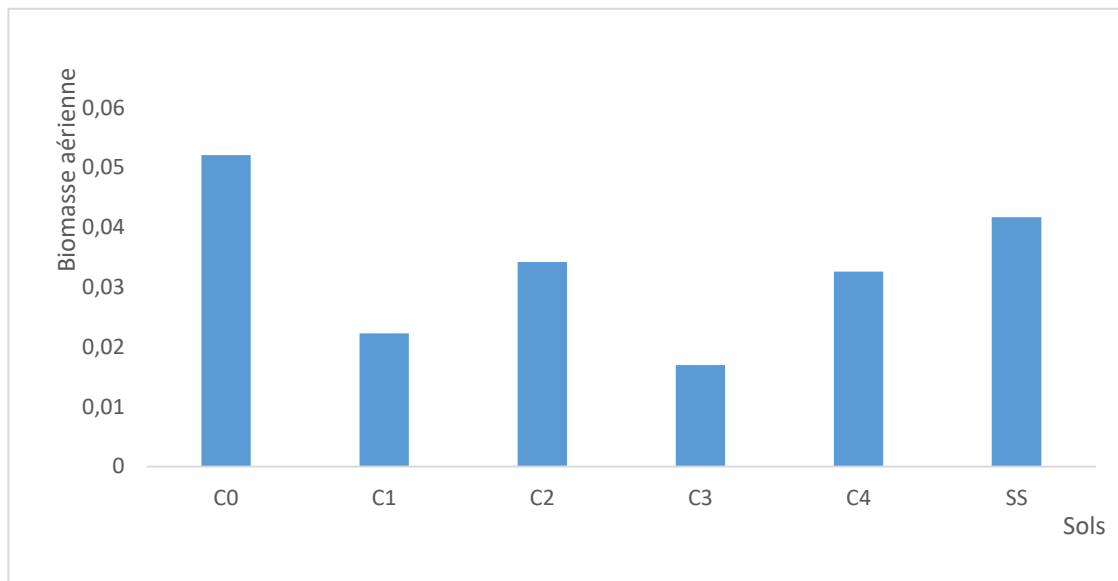


**Figure 14:** Biomasse aérienne des plants de maïs dans le sol de Makouda.

Le test de Kruskal-Walis (**Annexe VI**) effectué sur les résultats de la biomasse aérienne de la station Makouda indique qu'il n'y a pas de différence significative ( $p\text{-value}=0,145$ ) ce qui traduit l'absence de l'effet des carburants sur la biomasse aérienne du maïs.

#### **b. Station Ouadhias**

La figure 15 représente la biomasse aérienne moyenne des plantes du maïs cultivées dans le sol d'Ouadhias. La plus grande masse aérienne est enregistrée dans le sol de concentration  $C_0$  avec une moyenne de 0,0521 g. Deux valeurs plus ou moins égaux sont enregistrées dans les sols des concentrations  $C_2$  (0,0342 g),  $C_4$  (0,0326 g). Le sol SS montre une moyenne de biomasse aérienne se rapprochant de  $C_2$  et  $C_4$  avec une masse de 0,0417 g. Une valeur moyennement faible est représentée par le sol  $C_1$  (0,0223 g). Tandis que la valeur la plus faible est enregistrée par le sol de la concentration  $C_3$  (0,017 g).



**Figure 15 :** Biomasse aérienne des plants de maïs dans le sol d’Ouadhias.

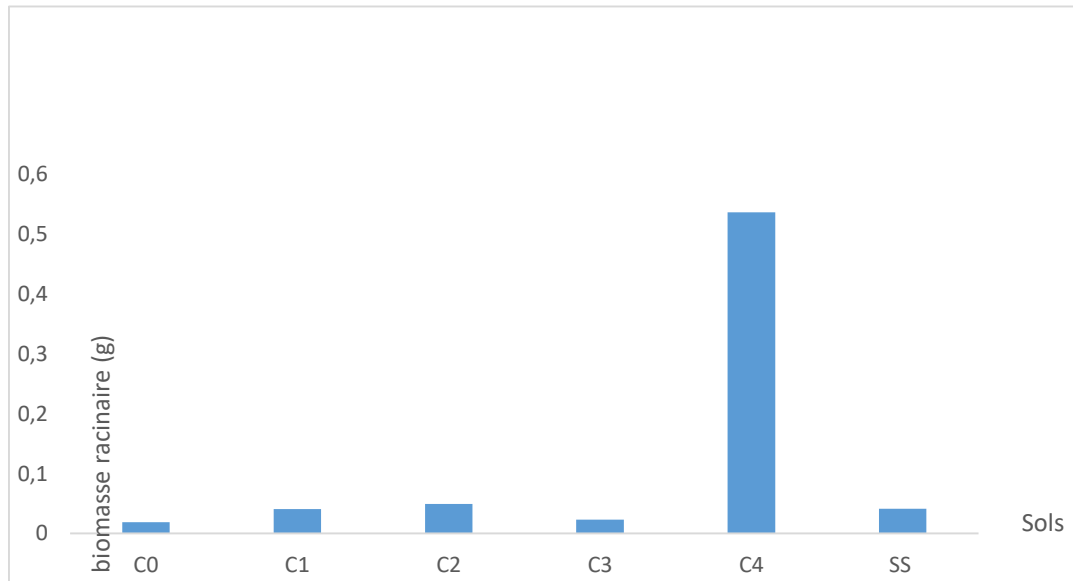
Le test de l’analyse de la variance (**Annexe VII**) sur les résultats de la biomasse aérienne du sol de la station Ouadhias indique qu’il n’y a pas de différence significative ( $P\text{-value}=0,1344$ ) ce qui signifie qu’il n’y a pas d’effet des concentrations de carburants sur la biomasse aérienne des plantes de maïs.

### **I.3.4. Biomasse racinaire**

#### **a. Station Makouda**

Les résultats de la biomasse racinaire moyenne des plantes du maïs cultivées dans le sol de Makouda sont représentés dans la figure 16.

D’après les résultats de la masse racinaire, la plus grande moyenne est obtenue dans le sol C<sub>4</sub> (0,537 g), suivi du sol SS avec une valeur de 0,0424 g, puis les sols C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub> avec des biomasses respectives de 0,407 g et 0,0496 g. Les plus faibles valeurs sont observées dans les sols des concentrations C<sub>3</sub> et C<sub>0</sub> (0,023 g et 0,0188 g).

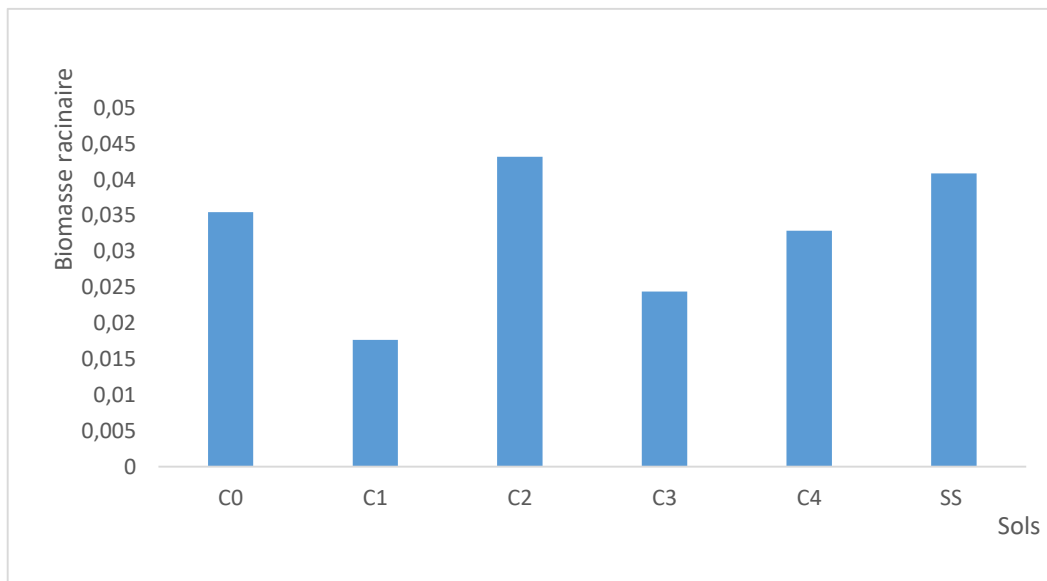


**Figure 16 :** Biomasse racinaire des plants de maïs dans le sol de Makouda.

Le test de Kruskal-Walis (**Annexe VII**) a révélé qu'il n'y a pas de différence significative ( $P$ -value=0,4303) entre la biomasse racinaire et les différentes concentrations des carburants. Ceci signifie que la partie racinaire des plants de maïs n'a pas été influencée par les différentes concentrations des hydrocarbures.

#### **b. Station Ouadhias**

D'après les résultats de la moyenne des masses racinaires (fig. 17), les biomasses les plus élevées ont été obtenues les sols C<sub>2</sub> (0,0432 g) et SS (0,0409 g). Le sol C<sub>0</sub> et le sol C<sub>4</sub> ont donné des valeurs proches (0,0335 g et 0,0329 g). Une valeur relativement faible est observée dans le sol C<sub>3</sub> (0,0244 g). La plus faible valeur est obtenue dans le sol de concentrations C<sub>1</sub> (0,0117).

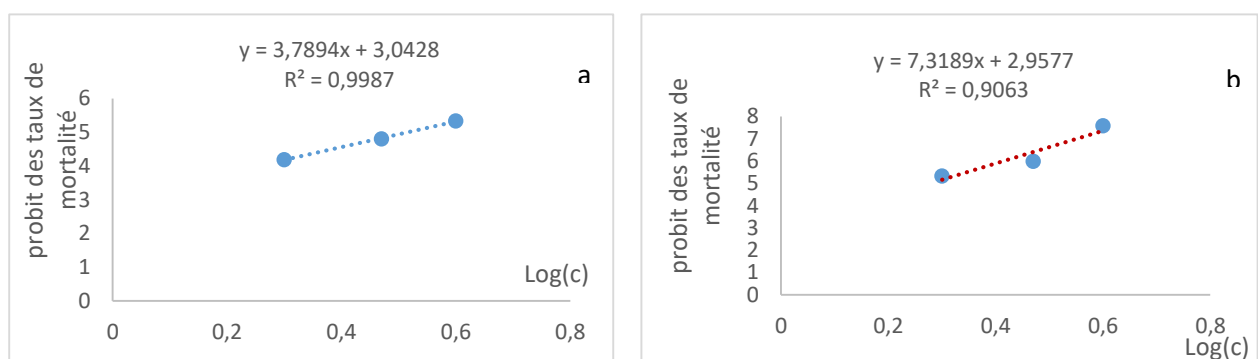


**Figure 17 :** Biomasse racinaire des plants de maïs dans le sol d'Ouadhias.

Les résultats de l'anova (**Annexe IX**) montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les biomasses racinaires obtenues dans les différents sols ( $p\text{-value}=0,3481$ ). La concentration en carburants n'a donc, pas eu d'effet sur la biomasse racinaire du maïs.

### I.3.5. Mortalité des vers de terre

La figure 18 représente les droites de régression des probits du taux de mortalité des vers de terre après 24 h dans le sol de Makouda et d'Ouadhias en fonction des LogConcentration. Ces courbes nous permettent de calculer la  $DL_{50}$ .



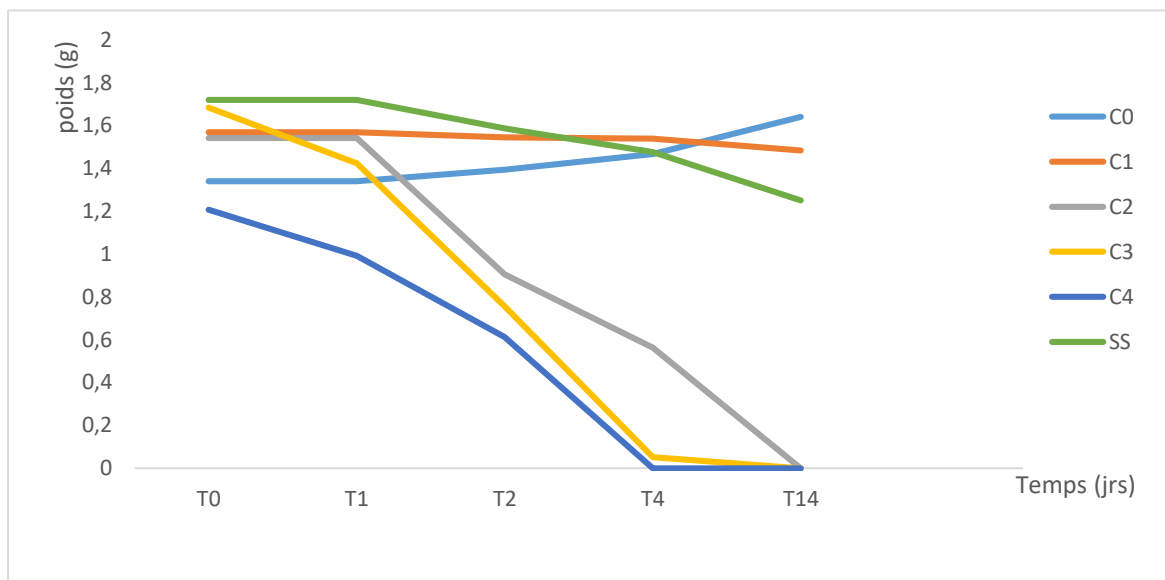
**Fig. 18 :** Droite des probits du taux de mortalité des vers de terre dans le sol de Makouda (a) et de Ouadhias (b) en fonction de Log(C) après 24h d'exposition aux carburants.

Le calcul de la  $DL50_{24h}$  des carburants pour les vers de terre a donné les valeurs de 3,28 g/100 g de sol de Makouda et 1,9 g/100 g de sol de Ouadhias.

### I.3.6. Variation du poids des vers de terre

#### a. Station Makouda

La figure 19 montre la variation du poids des vers de terre durant une période de 14 jours d'exposition aux différentes concentrations de carburants.



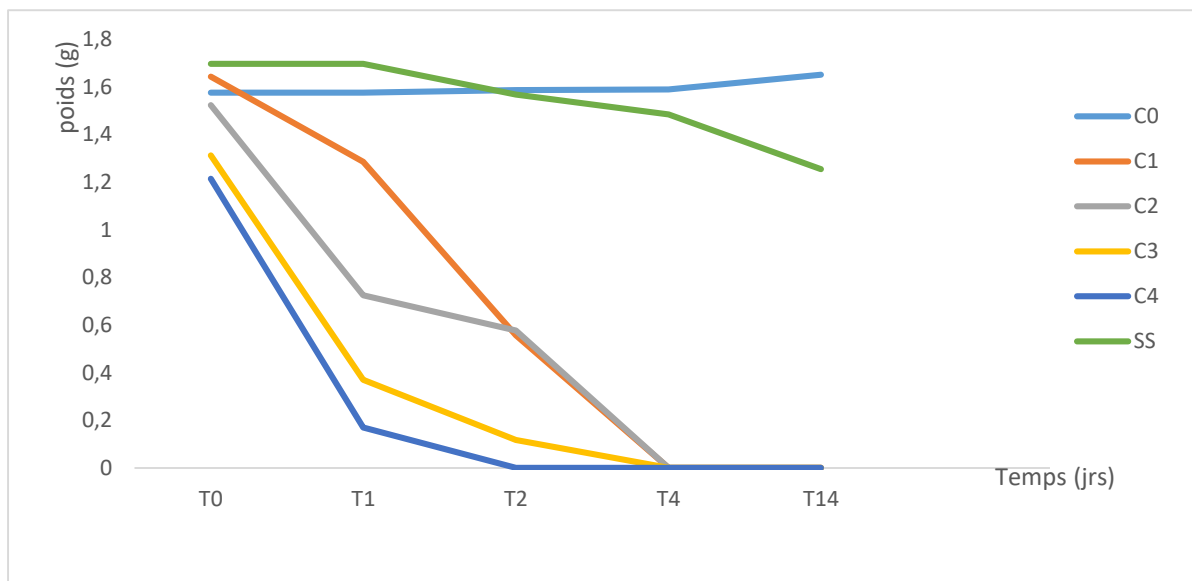
**Figure 19 :** Evolution du poids des vers de terre en fonction des concentrations des carburants dans le sol de la station de Makouda.

D'après la figure 19, une légère augmentation du poids des vers de terre a été observée dans le sol  $C_0$  à partir de T2 jusqu' à T14. Concernant le sol  $C_1$ , le poids a diminué de 0,08 g. Par contre une diminution remarquable et progressive du poids des vers de terre est observée dans les sols  $C_2$ ,  $C_3$ ,  $C_4$  et cela dès les premiers jours de l'expérience pour atteindre 0 g à T4 dans les sols  $C_3$  et  $C_4$  tandis que le sol  $C_2$  n'a atteint 0 g que vers le 14<sup>ème</sup> jour. Pour le sol pollué du site (SS), nous avons observé une légère baisse du poids des vers de terre durant toute la période de l'expérience.

Le test de Kruskal-Wallis (**Annexe X**) indique qu'il y a une différence significative ( $p$ -value= 0,01954), ce qui signifie que la concentration en carburants a eu un effet significatif sur le poids des vers de terre.

### b. Station de Ouadhias

La figure 20 montre la variation du poids des vers de terre durant une période de 14 jours d'exposition aux différentes concentrations de carburant.



**Figure 20 :** Evolution du poids des vers de terre en fonction des concentrations des carburants dans le sol de la station de Ouadhias.

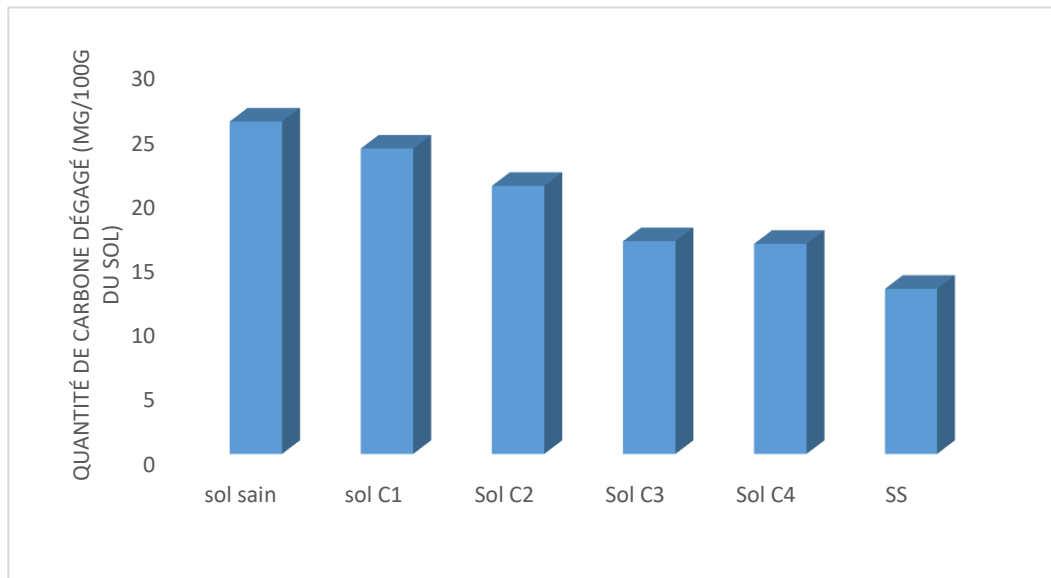
D'après la figure 21, le poids des individus de vers de terre dans le sol témoin (C0) a augmenté légèrement après 14 jrs, il est passé de 1,57g à 1,65g. Par contre, une diminution importante et progressive du poids des vers de terre est observée dans les sols C1, C2, C3, C4 et cela dès les premiers jours de l'expérience pour atteindre 0 g à T4. Pour le sol pollué du site (SS), nous avons constaté une baisse légère du poids des vers de terre durant toute la période de l'expérience.

Le test de Kruskal-Wallis (**Annexe XI**) indique qu'il y a une différence significative ( $p\text{-value} = 0,0043$ ), ce qui signifie que la concentration des carburants a un effet significatif sur le poids des vers de terre.

### I.3.7. L'activité biologique

#### a. Station de Makouda

La figure 21 représente la quantité du carbone dégagé dans le sol de Makouda après 7 jours d'incubation à 28°C. On constate que la quantité de carbone du CO<sub>2</sub> dégagée est plus importante dans le sol sain, et elle diminue au fur et à mesure que la concentration des carburants augmente. La valeur la plus faible a été enregistrée dans le sol pollué du site (SS).

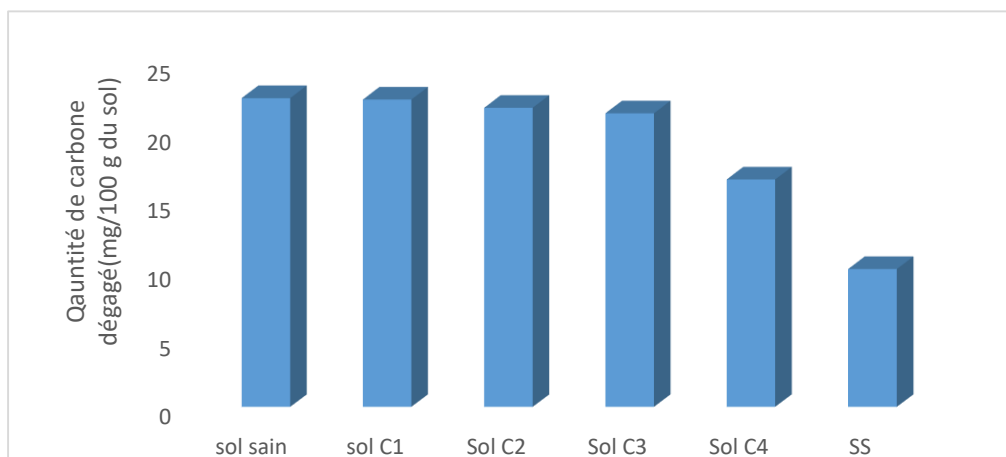


**Figure 21:** Dégagement de carbone cumulé en 7 jours dans le sol de Makouda.

L'anova pour l'activité biologique du sol révèle qu'il y a une différence très hautement significative entre les concentrations des carburants et l'activité biologique (P-value=0,00091). Le test de Newman-Keuls (**Annexe XII**) a fait ressortir quatre groupes homogènes : le sol C<sub>0</sub> et C<sub>1</sub> ont été classés dans le groupe A, le sol C<sub>2</sub> dans le groupe AB, les sols C<sub>3</sub> et C<sub>4</sub> dans le groupe BC et le sol SS dans le groupe C.

### b. Station Ouadhias

La figure 22 représente la quantité du carbone dégagé après dans le sol de Ouadhias après 7 jours d'incubation à 28°C. Les quantités du carbone du CO<sub>2</sub> dégagées sont presque les mêmes pour les sols C<sub>0</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>. Une quantité moins importante est observée dans le sol C<sub>4</sub>, quant au sol pollué du site une diminution remarquable est enregistrée.



**Figure 22 :** Dégagement de carbone cumulé en 7 jours dans le sol de Ouadhias.

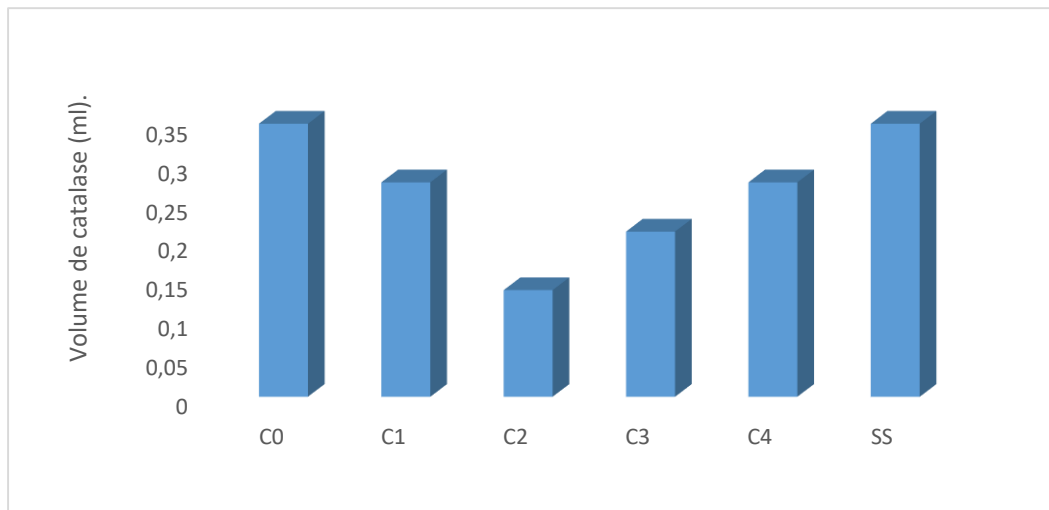
Le test de Kruskal-Wallis pour l'activité biologique (**Annexe XIII**) a donné une p-value=0,09, ce qui signifie que l'activité biologique du sol n'a pas été influencée par les concentrations des carburants.

### I.3.8. Activité de la catalase

#### a. Station de Makouda

Les résultats de l'activité de la catalase dans le sol de Makouda sont représentés dans la figure 23.

Le sol pollué du site (SS) et le sol C<sub>0</sub> montrent une grande activité enzymatique (CAT). Une activité moyenne est enregistrée dans les deux sols C<sub>1</sub> et C<sub>4</sub> et une baisse d'activité est observée dans le sol C<sub>3</sub> pour atteindre la plus faible activité dans le sol C<sub>2</sub>.



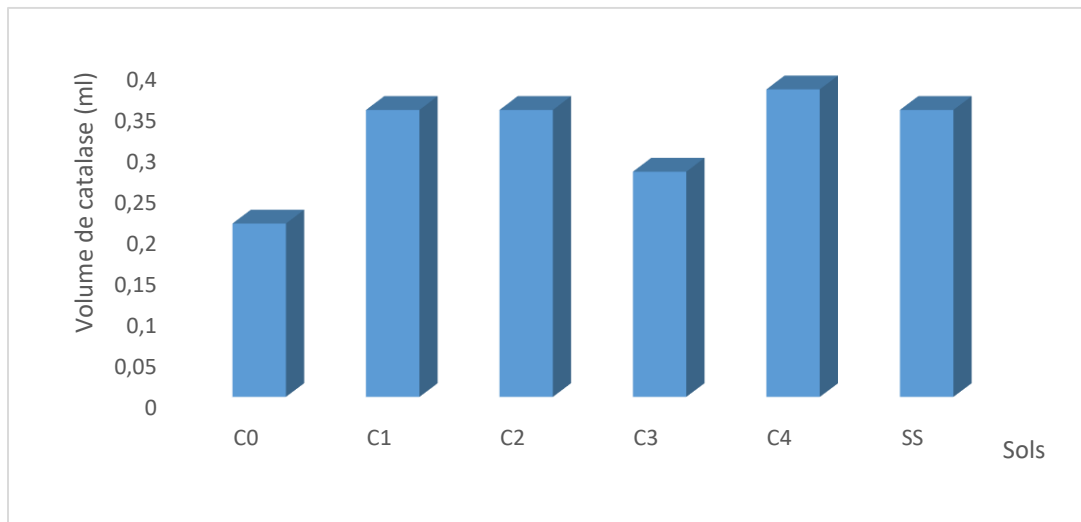
**Figure 23 :** Activité de la catalase dans le sol de Makouda.

L'anova pour l'activité de la catalase du sol indique qu'il y a une différence hautement significative entre les concentrations des carburants ( $P\text{-value}=0,0068$ ). Le test de Newman-Keuls (**Annexe XIV**) a classé les sols en trois groupes homogènes : le sol  $C_0$  et SS sont inclus dans le groupe A, le sol  $C_1$ ,  $C_3$ ,  $C_4$  sont classés dans le groupe AB et le sol  $C_2$  est classé dans le groupe B.

#### **b. Station Ouadhias**

Les résultats de l'activité de la catalase dans le sol de Ouadhias sont représentés dans la figure 24.

Le sol pollué du site (SS) et les sols  $C_1$ ,  $C_2$  et  $C_4$  montrent une grande activité enzymatique de la catalase (CAT). Une activité moyenne est enregistrée dans le sol  $C_3$  et la plus faible activité est observée dans le sol  $C_0$ .



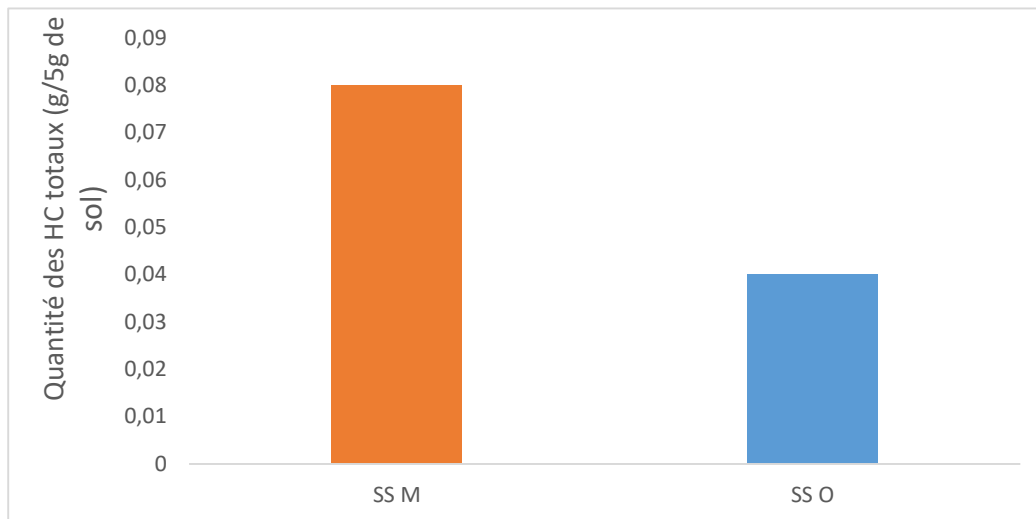
**Figure 24 :** Activité de catalase dans le sol d'Ouadhias.

L'anova (**Annexe XV**) a révélé l'absence de différences significatives entre les sols ( $p$ -value=0,18), ce qui signifie qu'il n'y a pas d'effet des différentes concentrations des carburants sur l'activité de cette enzyme.

#### **I.4. Quantification des hydrocarbures**

La figure 25 présente la quantité des hydrocarbures totaux qui existe dans les deux sols pollués prélevés dans la station de Makouda et la station d'Ouadhias.

Les résultats montrent clairement que le sol pollué de la station Makouda contient une quantité plus élevée d'hydrocarbures (1,6 g/100 g de sol) par rapport au sol pollué de la station de Ouadhias (0,8 g/100 g de sol).



**Figure 25 :** Quantité des hydrocarbures totaux dans les sols pollués des sites de la station de Makouda et la station de Ouadhias.

Le test de Student (**Annexe XVI**) révèle qu'il y a une différence significative ( $P\text{-value}=0,029$ ) entre le sol pollué de la station Makouda et le sol pollué de la station Ouadhias qui contient une quantité de carburants inférieure de moitié.

## II. Discussion

L'évaluation simplifiée du risque réalisé pour les deux stations-service Makouda et Ouadhias révèle que ces stations sont classées parmi les sites dangereux à forte priorité.

Dans le but de vérifier et de compléter les résultats de l'évaluation simplifiée du risque et de s'assurer de la justesse des conclusions, nous avons réalisé une étude plus poussée par le biais de tests écotoxicologiques et de bio-essais sur des espèces végétales et animales ainsi que sur l'activité microbienne du sol.

D'après les résultats du test de germination, l'élongation racinaire ainsi que les biomasses aérienne et racinaire effectués sur les plantes de maïs, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de différence significative entre le sol pollué des deux sites et les sols que nous avons contaminé artificiellement avec des doses croissantes de carburants. Ceci signifie que la contamination par les carburants, quelle que soit la concentration, n'a pas eu d'effets sur la germination et la croissance du maïs. Ceci est peut être lié à une diminution de la quantité des hydrocarbures présents dans le sol qui peut être provoqué suite aux différentes transformations qu'a subit le

sol lors de son excavation et lors de son traitement au laboratoire (séchage, broyage, tamisage, incubation,...).

Selon Bergue (1986), une grande partie des constituants des produits pétroliers subissent une grande variété de mécanismes d'élimination notamment évaporation, photo-décomposition, adsorption, percolation et dégradation bactérienne.

Gong et Wilke (2001) et Wang et Zhou (2005) affirment que la germination est peu affectée lorsque les concentrations de polluants sont faibles, parce que l'embryon peut absorber les nutriments à partir des réserves de la graine pour accomplir son processus de germination. Concernant la croissance du maïs qui n'a pas été très affectée par la contamination, cela peut être dû au fait que nous avons choisi les individus les plus robustes ajouter à cela l'arrosage régulier peut éliminer les fractions d'hydrocarbures les plus toxiques pour cette plante.

Nos résultats concernant les essais toxicologiques sur les vers de terre montrent que la contamination des sols par les carburants a un effet apparent sur la variation du poids et la mortalité des vers de terre du genre *Eseinia*.

Pour le sol C<sub>0</sub> des deux stations (sol non contaminé), nous avons enregistré une petite augmentation du poids de vers de terre qui peut s'expliquer par l'absence de facteur de stress (polluant) et présence de la matière organique qui sert de nourriture pour les vers de terre.

Pour le sol pollué des deux sites (SS) nous avons enregistré une baisse du poids des vers de terre certainement provoqué par les hydrocarbures déjà présent dans ces sols.

Concernant les sols C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> de la station de Ouadhias, le poids des vers de terre a diminué fortement après 24 h de contamination. La prise de poids a pris fin au bout de deux jours pour C<sub>3</sub> et C<sub>4</sub> et quatre jours pour le sol C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub> et cela à cause de la mort totale des individus.

Par contre les sols C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> de la station de Makouda, ont donné des résultats un peu différents de ceux de Ouadhias. De sorte que dans le sol C<sub>1</sub> nous avons enregistré une faible baisse du poids des vers de terre durant toute la période de la contamination et cela est dû à l'absence de la mortalité des individus. Dans le sol C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> une baisse assez conséquente résultats d'une mortalité des individus survenu le quatrième jour pour le sol C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> et le quatorzième jour pour le sol C<sub>2</sub>.

Cette différence entre les deux sites peut être due au faite que le sol de Ouadhias qui est de type argileux a retenu une grande quantité hydrocarbures de contamination (essence super, essence

sans plomb et gasoil) contrairement au sol de Makouda qui est de type sableux qui laisse passer une partie des hydrocarbures lors de l'arrosage.

Concernant la mortalité des vers de terre, les deux courbes de probit obtenu nous ont permis de calculer la dose létale pour 50% des individus pour les deux stations. Nous avons constaté que la DL<sub>50</sub> obtenu pour la station de Ouadhias (1,9 g/100 g de sol) est nettement moins élevée que celle obtenue pour la station de Makouda (3,2 g/100 g de sol), ce qui signifie que la toxicité est plus élevée dans le sol de Ouadhias que dans le sol de Makouda.

L'activité biologique du sol de Makouda diminue au fur et à mesure que la concentration en carburants augmente. Cette diminution indique que l'essence et le gasoil ont un effet toxique sur les microorganismes déjà présent dans le sol, ce qui leur provoque un stress créant ainsi un milieu considéré comme défavorable à leur croissance et leur prolifération.

Selon Labud et *al.* (2007), les différences dans la structure de la communauté microbienne et dans la composition des colloïdes entre les sols sont très importantes, c'est un facteur important pour expliquer ces divergences.

Dans la station de Ouadhias, les concentrations des carburants dans n'ont pas eu d'effet sur l'activité biologique du sol. Néanmoins nous avons remarqué une grande activité biologique dans les sols pollués par les différentes concentrations, cela peut se traduire par le fait que les microorganismes indigènes ce sont adaptés et sont capables de croître dans un tel sol pollué.

Nos résultats concernant l'activité biologique dans le sol de Ouadhias concordent avec les résultats obtenus par Bauer et *al.* (1991), Boopathy (2000), Labud et *al.* (2007) in Tejada et *al.* (2008) qui ont constaté qu'une augmentation de la respiration du sol après l'application d'hydrocarbures est probablement en raison du fait que les microorganismes du sol qui résistent à la toxicité des hydrocarbures et peuvent dégrader ces nouvelles substances sources de carbone.

Selon Anderson (1982) in Tejada et *al.* (2008), la respiration du sol est un bon indice de l'activité microbienne du sol et donne une idée de la quantité de substrats facilement minéralisables.

En ce qui concerne nos résultats de l'activité de la catalase dans la station de Makouda, une différence hautement significative a été observée entre les concentrations des carburants. Les sols C<sub>0</sub>, SS ont montré une grande activité biologique tandis que dans les sols C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> nous avons enregistré une diminution de l'activité. Ces résultats peuvent être dus au fait que

l'activité enzymatique soit liée à l'activité biologique de ces sols. Donc la diminution de l'activité biologique aboutit à la diminution de l'activité de ces enzymes en cas de stress.

Selon Tajada (2008), l'activité enzymatique diminue lors de l'épuisement du substrat facilement disponible résultant de la toxicité de l'essence et sont affamées lorsque les réserves sont épuisées, et ont diminué de manière significative.

Pour la station de Ouadhias, les résultats de l'activité de la catalase montrent qu'il n'y a pas de différence significative, donc il n'y a pas d'effet des différentes concentrations de carburants sur l'activité de cette enzyme. Ces résultats confirment l'existence de relation entre l'activité biologique et l'activité de la catalase.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Andreoni et al. (2004), Baran et al. (2004) et Eibes et al. (2006) qui affirment que la dynamique de certaines activités enzymatiques pendant la période d'incubation après l'ajout d'essence peut être liée à la dynamique des populations microbiennes du sol.

Enfin, les résultats du dosage des hydrocarbures dans les deux stations révèlent nettement que le sol du site de Makouda contient une plus grande quantité de polluant que celui de Ouadhias.

# **Conclusion générale**

## Conclusion générale

---

### Conclusion générale

Ce mémoire s'inscrit dans la problématique de l'évaluation des risques écologiques liés aux déversements d'hydrocarbures dans les stations-service. Dans le cadre de ce travail nous nous sommes particulièrement penchés sur l'état de pollution des deux stations-service de Makouda et de Ouadhias.

Le premier volet de ce travail était consacré à l'évaluation simplifiée du risque par un système de score. Les données qui ont été collectées au niveau de chaque station ont permis de calculer un score de risque. Les résultats obtenus nous ont permis de classer ces stations comme étant des sites dangereux à forte priorité, nécessitant une investigation supplémentaire et approfondie.

Le deuxième volet de ce travail était consacré à l'évaluation détaillée du risque qui consiste à effectuer des tests écotoxicologiques et des bioessais sur des sols prélevés dans les deux stations. Nous avons prélevé deux types de sol dans chaque station ; un sol contaminé et un sol non contaminé.

Le sol non contaminé il a été contaminé artificiellement au laboratoire avec un mélange d'hydrocarbures (Esence Super, Essence Sans Plomb et Gasoil) à différentes concentrations : C<sub>0</sub> (0%), C<sub>1</sub> (1%), C<sub>2</sub> (2%), C<sub>3</sub> (3%), C<sub>4</sub> (4%). Ce sol est destiné à la réalisation des tests toxicologiques en utilisant des organismes test qui sont : le maïs , les vers de terre du genre *Eisenia* et les microorganismes du sol. Le sol contaminé est destiné à la réalisation des bioessais.

La réponse des organismes testés, nous a permis de déterminer la présence ou l'absence d'effets des carburants sur ces organismes. Les résultats obtenus lors de notre expérimentation révèlent :

- ✓ L'absence d'effets toxiques dans le sol pollué du site et dans le sol des différentes concentrations d'hydrocarbures sur la germination et la croissance du maïs.
- ✓ Un effet significatif sur le poids et la survie des vers de terre du genre *Eisenia* est observé seulement sur les sols artificiellement contaminés; ce qui n'est pas le cas pour le sol du site, dans lequel les vers de terre sont restés vivants.

## Conclusion générale

---

- ✓ Une DL5024h plus élevée dans le sol de Makouda, indiquant que la toxicité est plus forte dans le site de Ouadhias.
- ✓ Une perte de poids des vers de terre est enregistrée vers le 14<sup>ème</sup> jour dans tous les sols pollués.
- ✓ Une respiration microbienne et une activité enzymatique plus importante dans le sol du site pollué de Ouadhias comparé à celui de la station de Makouda.
- ✓ Une plus grande quantité d'hydrocarbures dans le site de Makouda qui est plus pollué que celui de Ouadhias.

Au final, nous pouvons donc conclure que l'étude détaillée du risque démontre l'absence d'un risque écologique pour l'écosystème terrestre, lié au déversement d'hydrocarbures dans les deux stations et que l'état de ces sites n'est pas aussi alarmant que le démontre l'étude simplifiée du risque. Néanmoins une surveillance de ces sites est recommandée.

Ce travail démontre la pertinence des biotests dans l'évaluation de l'écotoxicité potentielle des déversements d'hydrocarbures dans les stations-service. Nous pouvons proposer, à cet effet, l'utilisation d'autres espèces animales et végétales en diversifiant les taxons afin d'avoir plus de données exploitables. Les tests plurispécifiques donnent plus d'informations que les tests monospécifiques.

Nous proposons également l'analyse de paramètres physiologiques afin de quantifier les effets de cette pollution sur les organismes vivants.

Il serait aussi intéressant, dans les études futures, de se pencher sur l'impact que peut provoquer ces sites sur la nappe phréatique ou les cours d'eau avoisinant. Il faut redoubler d'efforts pour identifier, évaluer, cartographier, surveiller et modéliser la pollution des sols afin de prévenir l'exposition humaine aux polluants et restaurer les sites pollués.

# **Références Bibliographiques**

## Références bibliographiques

**Andreoni V., Cavalca L., Rao M.A., Nocerino G., Bernasconi S., Dell'Amico E., Colombo M.m., Gianfreda L., 2004:** Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere*. vol. 11. n° 57 : 401-412.

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

**Baran S., Bielinska J.E., Oleszczuk P., 2004:** Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Geoderma*. vol. 11. n° 118 : 221-232.

**Baroudi H., 1997:** Méthodologie de diagnostic des sols pollués. Séminaire "Sols Pollués". Paris, France. INERIS-00972099 : 3-7.

**Bergue J.M., 1986 :** La pollution des sols par les hydrocarbures. Laboratoire régional de Rouen. vol. 3141 : 57- 68.

**Bergue J.M., Mérienne D., 1986:** La pollution des sols par les hydrocarbures. Bull, liaison Labo P. et Ch. vol. 146 : 57-66.

**Bermond M., 2002:** Évaluation des risques écotoxicologiques: fondements théoriques et mise en application en France. Synthèse technique. École Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts, Office International de l'Eau. Montpellier. 16p.

**Boillot C., 2008:** Evaluation des risques écotoxicologiques lies aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques. Contribution à l'amélioration de la phase caractérisation des effets. Thèse de Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Leyon. 298p.

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

**Chaîneau C.H., Morel J.L., Oudot J., 1997:** Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. *J. Environ. Quali.* vol. 26 : 1478-1483.

**Colin F., 2000:** Pollution localisés des sols et sous-sols par les hydrocarbures et les solvants chlorés. Edition Tec et Doc. Paris. 417p.

**Crane M., Higman M., Olsen T., Simpson P., Callaghan A., Fisher T., Kheir R., 2000:** An in situ system for exposing aquatic invertebrates to contaminated sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 19. n°. 11 : 2715-2719.

**Dommergues Y., 1968 :** Principes de méthodologie en microbiologie du sol. Nouveaux documents pour une étude intégrée en écologie du sol : 13-30.

**Donguy G., Chenon P., 2017:** Evaluation des Risques Ecotoxicologiques liés à l'épandage de boues de STEP chaulées sur une parcelle agricole. *Déchets Sciences et Techniques*. n° 74. 12p.

**Donguy G., et Perrodin Y., 2007:** Évaluation des risques écologiques dans le domaine des sites pollués. Définitions, concepts et usages des outils existants. ADEME, ENTPE-LSE. Version 1.0. 52p.

**Donguy G., Perrodin Y., 2015:** Guide méthodologique d'évaluation des risques écologiques liés aux aménagements urbains et aux infrastructures de transport. LSE-ENTPE. Vaulx en Velin. 65p.

**Eibes, G., Cajthaml, T., Moreira, M.T., Feijoo, G., Lema, J.M., 2006:** Enzymatic degradation of anthracene, dibenzothiophene and pyrene by manganese peroxidase in media containing acetone. *Chemosphere*. vol. 6. n° 64 : 408-414.

**Environnement Canada, 2004:** Méthode d'essai biologique: Essais pour déterminer la toxicité de sols contaminés pour les vers de terre *Eisenia andrei*, *Eisenia fetida* ou *Lumbricus terrestris*. Section de l'élaboration et de l'application des méthodes. Centre de technologie environnementale. Rapport (canada. Environnement Canada) SPE 1/RM/43. 163p.

**Forbes V.E., Forbes T.L., 1997:** Ecotoxicologie. Théorie et application. INRA éditions. Paris. 256p.

**Gomez D., 2010:** Etude approfondie de l'influence de la nature chimique des fine polluants d'hydrocarbure sur le calcule de risque sanitaire. Mémoire de fin d'études ingénieur du génie sanitaire. Ecole de haute étude en santé publique .74p.

**Gong P., Wilk B.M., Strozzi E., Fleischmann S., 2001:** Evaluation and refinement of a continuous seed germination and early growth test for the use in the ecotoxicological assessment of soils. *Chemosphere*. vol. 44: 491- 500.

- Hentati O., Lachhab R., Ayadi M., Ksibi M., 2012:** Toxicity assessment for petroleum-contaminated soil using terrestrial invertebrates and plant bioassays. *Environmental Monitoring and Assessment*. vol. 185: 2989-2990.
- Hilpert M., Breysse P. N., 2014:** Infiltration and evaporation of small hydrocarbon spills at gas stations. *Journal of Contaminant Hydrology*. vol. 170: 39-52.
- Hilpert M., Mora B.A., Ni J., Rule A.M., Nachman K.E., 2015:** Hydrocarbon Release During Fuel Storage and Transfer at Gas stations: Environmental and Health Effects. *Current Environmental Health Reports*. vol. 2 : 412-422.
- INRS, 2005:** Méthodologie d'évaluation simplifiée du risque chimique : un outil d'aide à la décision. *Hygiène et sécurité du travail- cahiers de notes documentaires- 3<sup>ème</sup> trimestre*. 62p.
- International Seed Testing Association, 1999:** International Rules for Seed Testing: Rules 1999: Adopted at the Twenty-fifth International Seed Testing Congress, South Africa 1998, to Become Effective in 1 July 1999. International Seed Testing Association, Zürich. 335p.
- Ikuesan F.A., 2017:** Evaluation of Crude Oil Biodegradation Potentials of some Indigenous Soil Microorganisms. *Science domain international. Journal of Scientific Research and Reports*. vol. 13. n° 5 : 1-9.
- Khelif L., 2017:** Evaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents industriels dans le lac de Réghaïa, approche physiologique par bioessais sur deux espèces végétales *Trifolium alexandrinum* et *Avena sativa*. Thèse de doctorat. USTHB. 144p.
- Labud V., Garcia C., Hernandez T., 2007:** Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. *Chemosphere*. vol. 8. n° 66 : 1863-1871.
- Lemiére B., Seguin J. J., Le Guern C., Guyonnet D., Baranger Ph., Darmendrail D., Conil P., 2001:** Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes. Application dans un Contexte d'Évaluation Détaillée des Risques pour les ressources en eau. Rapport du BRGM/RP-50662-FR. 103p.
- Liu R., Xiao N., Wei S., Zhao L., An J., 2014:** Rhizosphere effects of PAH- contaminated soil phytoremediation using special plant named Fire Phonex. *Science of the Total Environment* vol. 473: 350-358.

**Mihoub A., Chaoui A., El Ferjani E., 2005:** Changements biochimiques induits par le cadmium et le cuivre au cours de la germination des graines de petit pois (*Pisum sativum* L.). C R Biologies. vol .8. n° 328 : 33-41.

**Orée, 2021 :** Guide interactif de la gestion des risques liés à l'environnement pour les collectivités. <http://risquesenvironnementaux-collectivites.oree.org/le-guide/risques-mon-territoire/sante-environnement/pollution-du-sol.html>.

**Ouedraogo J., Ouedraogo E., Nacro H.B., 2017:** la macrofaune du sol améliore l'efficacité de l'utilisation de l'énergie par les microorganismes. Journal of Applied Biosciences. vol. 11. n° 114: 11345-11356.

**Pellet M., Laville- Timsit L., 1993 :** Echantillonnage des sols pour caractérisation d'une pollution : Guide méthodologique. Rapport BRGM. R 37865. 74p.

**Perrodin Y., Boillot C., Angeville R., Donguy G., Emmanuel E., 2011:** Ecological risk assessment of urban and industrial systems. Science of the Total Environment. vol. 409 : 5162-5176.

**Pichaud N., 2005:** Effets biologiques d'une exposition par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur une espèce bioindicatrice, *Mya arenaria*. Mémoire. Université du Québec à Rimouski. 83p.

**Ramade F., 1993 :** Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement .Edition Ediscience. 822p.

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

**RECORD, 2011:** Mélange de polluants, toxicité, écotoxicité et évaluation des risques. Rapport final n° 08-0668/1A. 295p.

**Rivière J.L., 1998:** Evaluation du risque écologique des sols pollués. Edition Lavoisier Tec et Doc. Paris. 230p.

**Souza T.S., Christofolletti C.A., Fontanetti C.S., 2011:** Ecotoxicological assays applied in soils contaminated by petroleum hydrocarbons. Ecotoxicology around the Globe. Editor: Julia E. Visser: 248-261.

**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 : 282-290.

**US EPA, 1989:** Drinking water criteria document for chlorine, hypochlorous acid and hypochlorite ion. United States Environmental Protection Agency-Environmental Criteria and Assessment Office. EPA 749-F-94-010a. Cincinnati (OH).

**Vaajasaari K., Joutti A., Schultz E., Selonen S., Westerholm H., 2002:** Comparisons of Terrestrial and Aquatic Bioassays for Oil-Contaminated Soil Toxicity. *Journal of Soils and Sediments*. vol. 2. n° 4: 194-202.

**Vernay P., Austruy A., Gauthier-Moussard C., Hitmi A., 2009:** Germination et fonctionnement du système photosynthétique des végétaux comme bioindicateurs de pollution des sols. *Étude et Gestion des Sols*. vol. 16 : 349-357.

**Wang, X. F., Zhou, Q.X., 2005:** Ecotoxicological effects of cadmium on three ornamental plants. *Chemosphere*. vol. 5. n° 60: 16-21.

**Winqvist E., Bjoklof K., Schultz E., Rasanen M., Salonen K., Anasonye F., Cajthaml T., Steffen K.T., Jorgensen K.S., Tuomela M., 2014:** Bioremediation of PAH- contaminated soil with fungi- from laboratory to field scale. *International Biodeterioration & Biodegradation*. vol 86: 238- 247.

**Wixtrom R.N., Brown S.L., 1992:** Individual and population exposures to gasoline. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. vol. 2. n° 1 : 23-78.

# Liste des annexes

## Liste des annexes :

### Annexe I : Résultats brut des tests écotoxicologiques et bioessais.

#### 1. Taux de germination des graines de maïs dans les deux stations.

Sols	Nombre des graines de maïs germés	
	Station Makouda	Station Ouadhias
Sol C0	5	5
Sol C0	5	5
Sol C0	4	5
Sol C1	5	5
Sol C1	5	4
Sol C1	5	5
Sol C2	5	5
Sol C2	5	5
Sol C2	5	5
Sol C3	5	3
Sol C3	5	5
Sol C3	4	5
Sol C4	4	2
Sol C4	5	4
Sol C4	4	5
SS	5	5
SS	4	5
SS	5	5

2. Elongation racinaire de maïs dans la station de Makouda:

sols	Elongation racinaire (cm)				
	Graine 1	Graine 2	Graine 3	Graine4	Graine 5
sol C0	0	13,2	0	15,1	9,4
sol C0	9,3	13,3	13,9	19,3	11,9
sol C0	0	0,1	0	0	0,3
sol C1	14,8	19,7	16,2	0	14,4
sol C1	12,8	11,8	3,5	23,7	24,1
sol C1	0	5,1	0	7,4	0
sol C2	13	7,8	20,5	7,8	0
sol C2	13,4	13,2	9,8	14,4	0
sol C2	7,6	7,3	0	12,7	1,5
sol C3	12,1	0,2	0	7,8	8,2
sol C3	17,7	14,1	10,8	16,9	3
sol C3	1	9,1	0	0	0,1
sol C4	0,4	12	0	6,8	6
sol C4	0	13,9	10,1	7,8	11,6
sol C4	0,3	13,6	0	13	8,8
SS	0,9	0	3,1	7,5	7,5
SS	0	0	10,4	9,4	0
SS	3	0	11,2	9,2	0

3. Elongation racinaire de maïs dans la station de Ouadhias :

sols	Elongation racinaire (cm)				
	Graine 1	Graine 2	Graine 3	Graine4	Graine 5
sol C0	7,8	3,4	14	3,5	0
sol C0	0	0	14,3	0	13,2
sol C0	0	6	4,7	7,2	25,5
sol C1	15,3	16	0,2	1	15,5
sol C1	0	1,1	0	0	0
sol C1	15,5	8,4	10	8,9	7,03
sol C2	0	5,6	0,2	18,6	20,3
sol C2	3,3	0	0,5	1	23,5
sol C2	17,7	12,2	0	12,5	10
sol C3	3,4	16,5	4,2	1,9	0
sol C3	2,2	0,5	0,7	14,3	0,5
sol C3	12,6	0,1	11,2	15	0
sol C4	2,9	0,2	0	7,2	0,6
sol C4	3,6	7,7	0	7,6	16,1
sol C4	11,1	10,7	12,7	6,5	10,9
SS	1,6	0,2	5,6	9,1	0,6
SS	0,1	8,3	17	2,4	3,6
SS	1,8	4,3	0,4	3,1	0,5

4. Biomasse aérienne du maïs :

sols	Biomasse aérienne du maïs (g)	
	Station Makouda	Station Ouadhias
Sol C0	0,0203	0,0715
Sol C0	0,0174	0,0492
Sol C0	0	0,0356
Sol C1	0,0297	0
Sol C1	0,0582	0,0223
Sol C1	0,0246	0
Sol C2	0,0325	0,0495
Sol C2	0,0234	0,0241
Sol C2	0,0245	0,0292
Sol C3	0,0257	0,0166
Sol C3	0,0194	0,0155
Sol C3	0,0142	0,0191
Sol C4	0,0255	0,0077
Sol C4	0,0191	0,0358
Sol C4	0,0331	0,0543
SS	0,0345	0,0417
SS	0,0124	0,0616
SS	0,0262	0,0218

5. Biomasse racinaire du maïs dans les deux stations :

sols	Biomasse racinaire du maïs (g)	
	Station Makouda	Station Ouadhias
Sol C0	0,0233	0,0289
Sol C0	0,0188	0,0580
Sol C0	0	0,0198
Sol C1	0,0340	0
Sol C1	0,0407	0,0177
Sol C1	0,0191	0,
Sol C2	0,0617	0,0517
Sol C2	0,0630	0,0506
Sol C2	0,0241	0,0275
Sol C3	0,0206	0,0300
Sol C3	0,0207	0,0078
Sol C3	0,0277	0,0355
Sol C4	0,0436	0,0197
Sol C4	0,1050	0,0559
Sol C4	0,0537	0,0231
SS	0,0618	0,0465
SS	0,0414	0,0565
SS	0,0204	0,0245

6. Valeurs du poids des vers de terre dans la station de Makouda

Temps (jours)	Poids des vers de terre (g)					
	Sol C0	sol C1	Sol C2	Sol C3	Sol C4	SS
T0	1,3398	1,5687	1,5413	1,6839	1,2076	1,7202
T1	1,3398	1,5687	1,5413	1,4235	0,9916	1,7202
T2	1,3945	1,5445	0,9051	0,7555	0,612	1,5867
T4	1,4678	1,5394	0,5634	0,0523	0	1,4765
T14	1,6411	1,4834	0	0	0	1,25

7. Valeurs du poids des vers de terre dans la station de Oadhias :

Temps (jours)	Poids des vers de terre (g)					
	C0	C1	C2	C3	C4	SS
T0	1,5764	1,6442	1,5238	1,3135	1,2146	1,6971
T1	1,5764	1,286	0,7258	0,3705	0,1696	1,6971
T2	1,5867	0,5568	0,5778	0,1175	0	1,5678
T4	1,5905	0,1106	0	0	0	1,4857
T14	1,6512	0	0	0	0	1,2555

8. Probits des taux de mortalité des vers de terre dans la station Makouda:

Log (c)	probits des taux de mortalité
0	0
0	0
0,3	4,19
0,47	4,8
0,6	5,33

9. Probits des taux de mortalité des vers de terre dans la station Ouadhias:

Log(c)	probits des taux de mortalité
0	0
0	0
0,3	5,33
0,47	5,99
0,6	7,58

10. Le test d'activité biologique dans le sol de la station Makouda :

sols	V acide (h <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) ml	Carbone dégagé (mg/100 g du sol)
Sol C0	2,8	8,4
Sol C0	8,3	24,9
Sol C0	8,7	26,1
sol C1	8,3	24,9
sol C1	7,3	21,9
sol C1	8,1	24,3
sol C2	7,2	21,6
sol C2	7,8	23,4
sol C2	5,8	17,4
sol C3	5,2	15,6
sol C3	5,9	17,7
sol C3	5,4	16,2
sol C4	5	15
sol C4	6,8	20,4
sol C4	4,5	13,5
SS	2,8	8,4
SS	5,7	17,7
SS	4,1	12,3

11. Le test d'activité biologique dans le sol de la station de Ouadhias :

sols	V acide (h <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) ml	Carbone dégagé (mg/100 g du sol)
Sol C0	2,8	8,4
Sol C0	8,3	24,9
Sol C0	8,7	26,1
sol C1	8,3	24,9
sol C1	7,3	21,9
sol C1	8,1	24,3
sol C2	7,2	21,6
sol C2	7,8	23,4
sol C2	5,8	17,4
sol C3	5,2	15,6
sol C3	5,9	17,7
sol C3	5,4	16,2
sol C4	5	15
sol C4	6,8	20,4
sol C4	4,5	13,5
SS	2,8	8,4
SS	5,7	17,7
SS	4,1	12,3

- Calcule du volume de la quantité de carbone dégagé :

1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>= 3 mg C

n ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>= X

$$X = n \text{ ml H}_2\text{SO}_4 \times 3$$

12. Le test d'activité de catalase dans le sol de la station de Makouda :

Sols	V acide (h <sub>2</sub> so <sub>4</sub> ) ml	Volume de catalase (ml)
Sol C0	0,5	0,35
Sol C0	0,6	0,42
Sol C0	0,6	0,42
sol C1	0,3	0,21
sol C1	0,5	0,35
sol C1	0,4	0,28
sol C2	0,2	0,14
sol C2	0,4	0,28
sol C2	0,2	0,14
sol C3	0,4	0,28
sol C3	0,4	0,28
sol C3	0,3	0,21
sol C4	0,3	0,21
sol C4	0,5	0,35
sol C4	0,4	0,28
SS	0,5	0,35
SS	0,5	0,35
SS	0,7	0,49

13. Le test d'activité de catalase dans le sol de la station de Ouadhias :

sols	V acide (h <sub>2</sub> so <sub>4</sub> ) ml	Volume de catalase (ml)
Sol C0	0,3	0,21
Sol C0	0,3	0,21
Sol C0	0,5	0,35
sol C1	0,6	0,42
sol C1	0,5	0,35
sol C1	0,4	0,28
sol C2	0,7	0,49
sol C2	0,5	0,35
sol C2	0,5	0,35
sol C3	0,3	0,21
sol C3	0,4	0,28
sol C3	0,5	0,35
sol C4	0,6	0,42
sol C4	0,5	0,35
sol C4	0,5	0,35
SS	0,4	0,28
SS	0,6	0,42
SS	0,7	0,49

- Calcul du volume de catalase :

$$-n \text{ KMnO}_4 = 0,02 \times V$$

$$-n \text{ H}_2\text{O}_2 = 5/2 \ n \text{ KMnO}_4$$

$$.V \text{ H}_2\text{O}_2 = n \text{ H}_2\text{O}_2 / [\text{H}_2\text{O}_2]$$

$$-V \text{ catalase} = 1,25 \times V \text{ H}_2\text{O}_2$$

Avec:  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 0,088 \text{ mol/l}$

$$[\text{KMnO}_4] = 0,02 \text{ mol/l}$$

14. Quantification des hydrocarbures totaux:

sols	quantité des HC (g)
SS M	0,08
SS M	0,09
SS O	0,05
SS O	0,04

**Annexe II : Test de Kruskal-Wallis pour le taux de germination de la Station de Makouda.**

```
> shapiro.test(TG)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  TG
W = 0.37305, p-value = 7.572e-08

> kruskal.test(TG~Sol)
Erreur dans eval(predvars, data, env) : objet 'Sol' introuvable
> kruskal.test(TG~SolM)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  TG by SolM
Kruskal-Wallis chi-squared = 4.25, df = 5, p-value = 0.514

> |
```

**Annexe III : Test de Kruskal-Wallis pour le taux de germination de la Station de Ouadhias.**

```
> shapiro.test(TG)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  TG
W = 0.67782, p-value = 4.46e-05

> kruskal.test(TG~Sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  TG by Sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 4.5379, df = 5, p-value = 0.4748

> |
```

#### Annexe IV : Test d'ANOVA pour l'élongation racinaire de la station de Makouda.

```
Shapiro-Wilk normality test

data: ER
W = 0.95433, p-value = 0.497

> library(car)
Le chargement a nécessité le package : carData
> names(x)
[1] "Sol" "ER"
> leveneTest(ER~Sol)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
      Df F value Pr(>F)
group  5  0.5554 0.7321
      12
Message d'avis :
Dans leveneTest.default(y = y, group = group, ...) : group coerced to factor.
> reg.aov1=lm(ER~Sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: ER
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sol     5  87.629  17.5259   1.7604 0.1957
Residuals 12 119.470   9.9558
```

#### Annexe V : Test d'ANOVA pour l'élongation racinaire de la station de Ouadhias.

```
Shapiro-Wilk normality test

data: ER
W = 0.95271, p-value = 0.4691

> library(car)
> names(x)
[1] "Sol" "ER"
> leveneTest(ER~Sol)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
      Df F value Pr(>F)
group  5  0.107 0.9886
      12
Message d'avis :
Dans leveneTest.default(y = y, group = group, ...) : group coerced to factor.
> reg.aov1=lm(ER~Sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: ER
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sol     5  96.753  19.351   1.5327 0.2518
Residuals 12 151.506  12.626
```

**Annexe VI : Test de Kruskal-Wallis pour la biomasse aérienne de la station de Makouda.**

```
> shapiro.test(BA)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  BA
W = 0.7734, p-value = 0.001709

> kruskal.test(BA~Sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  BA by Sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 6.8333, df = 4, p-value = 0.145

> |
```

**Annexe VII : Test d'ANOVA pour la biomasse aérienne de la station de Ouadhias.**

```
      Shapiro-Wilk normality test

data:  BA
W = 0.92678, p-value = 0.1704

> library(car)
> names(x)
[1] "Sol" "BA"
> leveneTest(BA~Sol)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
      Df F value Pr(>F)
group  5  1.1683 0.3793
      12
Message d'avis :
Dans leveneTest.default(y = y, group = group, ...) : group coerced to factor.
> reg.aov1=lm(BA~Sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: BA
      Df    Sum Sq   Mean Sq F value Pr(>F)
Sol     5 0.0025723 0.00051446  2.1088 0.1344
Residuals 12 0.0029274 0.00024395

> |
```

### VIII : Test de Kruskal-walis pour la biomasse racinaire de la station Makouda.

```
> shapiro.test(BR)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  BR
W = 0.84195, p-value = 0.006339

> kruskal.test(BR~Sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  BR by Sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 4.883, df = 5, p-value = 0.4303
|
```

### IX : Test d'ANOVA pour la biomasse racinaire de la station Ouadhias.

```
      Shapiro-Wilk normality test

data:  BR
W = 0.92172, p-value = 0.1387

> library(car)
> names(x)
[1] "Sol" "BR"
> leveneTest(BR~Sol)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
      Df F value Pr(>F)
group  5  0.1878 0.9616
      12
Message d'avis :
Dans leveneTest.default(y = y, group = group, ...) : group coerced to factor.
> reg.aov1=lm(BR~Sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: BR
      Df    Sum Sq   Mean Sq F value Pr(>F)
Sol     5 0.0015364 0.00030727  1.2444 0.3481
Residuals 12 0.0029630 0.00024692
> |
```

**Annexe X :** Test de Kruskal –Wallis sur la variation du Poids des vers de terre dans la station de Makouda.

```
> shapiro.test(pd)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  pd
W = 0.79837, p-value = 6.122e-05

> kruskal.test(pd~CON)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  pd by CON
Kruskal-Wallis chi-squared = 13.446, df = 5, p-value = 0.01954
```

**Annexe XI :** Test de Kruskal –Wallis sur la variation du Poids des vers de terre dans la station de Ouadhias.

```
> shapiro.test(pd)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  pd
W = 0.80341, p-value = 7.569e-05

> kruskal.test(pd~CON)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  pd by CON
Kruskal-Wallis chi-squared = 17.091, df = 5, p-value = 0.004331
```

**Annexe XII :** Test de Newman et Keuls pour l'activité biologique dans la station de Makouda.

```
$groups
  CARBON groups
C0  25.8      a
C1  23.7      a
C2  20.8     ab
C3  16.5     bc
C4  16.3     bc
SS  12.8      c

attr(,"class")
[1] "group"
> |
```

**Annexe XIII :** Test de Kruskal-Wallis pour l'activité biologique dans la station de Ouadhias.

```
> shapiro.test(CARBON)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  CARBON
W = 0.70663, p-value = 9.547e-05

> kruskal.test(CARBON~Sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  CARBON by Sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 9.4464, df = 5, p-value = 0.09253

> |
<
```

**Annexe XIV :** Test de Newman et Keuls pour l'activité de la CAT dans la station de Makouda.

```
$groups
      VCAT groups
C0 0.5666667      a
SS 0.5666667      a
C4 0.4000000     ab
C1 0.3666667     ab
C3 0.3666667     ab
C2 0.2666667      b

attr(,"class")
[1] "group"
```

**Annexe XV :** Test d'ANOVA pour l'activité de la CAT dans la station de Ouadhias.

```
Shapiro-Wilk normality test

data: VCAT
W = 0.91765, p-value = 0.1175

> library(car)
> names(x)
[1] "Sol" "VCAT"
> leveneTest(VCAT~Sol)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
      Df F value Pr(>F)
group  5  0.1714 0.9683
      12
Message d'avis :
Dans leveneTest.default(y = y, group = group, ...) : group coerced to factor.
> reg.aov1=lm(VCAT~Sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: VCAT
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Sol      5 0.11111 0.022222  1.8182 0.1837
Residuals 12 0.14667 0.012222
```

**Annexe XVI :** Test de Student pour la quantification des hydrocarbures totaux.

```
> t.test(HC[sol=="SSM"],HC[sol=="SSO"],var.equal=T)

Two Sample t-test

data: HC[sol == "SSM"] and HC[sol == "SSO"]
t = 5.6569, df = 2, p-value = 0.02986
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.009575651 0.070424349
sample estimates:
mean of x mean of y
 0.085     0.045
```

Annexe XVII : Table des probits

**Table 3.2 Transformation of percentages to probits**

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

Annexe XVIII : Triangle des textures.



**Annexe XIX : Quantités de carburants desservis dans les deux stations et leurs équivalents en volume :**

1. Quantité de carburants desservis et l'équivalent de volume dans la station de Makouda :

<b>Carburants</b>	<b>QMax</b>	<b>Qi</b>
Gasoil.	20315 L= 5 volume	14000L
Essence super.	3868 L= 1 volume	1900L
Essence sans plomb.	4051 L= 1 volume	2050L

- 1 volume = 4000 L.

2. Quantité de carburants desservis dans la station de Ouadhias :

<b>Carburants</b>	<b>QMax</b>	<b>Qi</b>
Gasoil.	15000 L=15 volume	18000L
Essence super.	1000 L=1 volume	1200L
Essence sans plomb.	1000 L=1 volume	1200L

- 1 volume = 1000 L .

## **Résumé :**

Le présent travail a pour objectif d'évaluer le risque écologique dans deux stations-service, Makouda et Ouadhias, provoqué par le déversement d'hydrocarbures qui se produisent dans ces stations. Pour ce faire, des échantillons du sol contaminé et non contaminé ont été prélevés dans les deux sites étudiés. Le sol non contaminé a été contaminé artificiellement à différentes concentrations : 0 %, 1%, 2%, 3%, 4%, par un mélange d'essence super, essence sans plomb et de gasoil provenant des mêmes stations afin de se rapprocher des conditions naturelles d'une éventuelle fuite de carburant. Des tests toxicologiques et bioessais ont été réalisés au laboratoire sur les différents types de sol en utilisant le maïs (*Zea mays*), les vers de terre de genre *Eisenia* et les microorganismes du sol. Des effets sur les paramètres biologiques de ces espèces ont été mesurés (la germination, l'élongation racinaire, la biomasse aérienne, la biomasse racinaire, le poids et la mortalité des vers de terre ainsi que l'activité biologique et l'activité de la catalase).

Les résultats de ces tests ont montré l'absence d'un risque écologique élevé lié à ces déversements dans les deux stations, toutefois ces stations nécessitent une surveillance.

**Mots clés :** évaluation du risque, hydrocarbures, bioessais, test toxicologique, station-service.

## **Abstract:**

The objective of the present work is to evaluate the ecological risk in two gas stations, Makouda and Ouadhias, caused by the hydrocarbon spills that occur in these stations. To do this, samples of contaminated and uncontaminated soil were taken from the two sites studied. The uncontaminated soil was artificially contaminated at different concentrations: 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, with a mixture of premium gasoline, unleaded gasoline and diesel from the same stations in order to approximate the natural conditions of a possible fuel leak. Toxicological tests and bioassays were carried out in the laboratory on the different types of soil using corn (*Zea mays*), earthworms of the genus *Eisenia* and soil microorganisms. Effects on the biological parameters of these species were measured (germination, root elongation, aerial biomass, root biomass, earthworm weight and mortality, and biological activity and catalase activity).

The results of these tests showed the absence of a high ecological risk associated with these spills at both sites, however these sites require monitoring.

**Keywords:** risk assessment, hydrocarbons, bioassays, toxicological test, gas station.