

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des sciences Biologiques et 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 : Utilisation de bio-essais dans l'évaluation de
l'efficacité de techniques biologiques de remédiation de sols
pollués aux hydrocarbures***

Présenté par : M^{me} DIALLO Dah Perpétue
M^{me} KACI Sylia

Devant le jury :

Présidente : M ^{me} ALI AHMED SADOUDI D.	Professeur à l'UMMTO
Promotrice : M ^{me} ALI AHMED S.	M.A.A à l'UMMTO
Examinatrice : M ^{me} SAHMOUNE F.	M.A.A à l'UMMTO

Année universitaire : 2020-2021

Remerciements

Tout d'abord on tient à adresser nos plus sincères remerciements à notre promotrice Mme ALI AHMED S., M.A.A au département de biologie de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour son suivi, son orientation, son aide, ses conseils qui nous ont permis de nous dépasser, nous améliorer et progresser lors de l'accomplissement de ce travail.

Nous remercions également les membres du jury, la présidente Mme ALI AHMED SADOUDI D., Professeur au département de biologie de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou et l'examinatrice Mme SAHMOUNE F., M.A.A au département de biologie de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour avoir accepté d'examiner ce mémoire et pour l'intérêt qu'elles ont porté à ce travail.

Nous tenons à remercier aussi, Mme LANDRI G., M.A.A au département de biologie de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour son aide précieuse dans l'identification des vers de terre.

Nos remerciements s'adressent également aux ingénieurs des laboratoires « pathologie des écosystèmes » et « communs » de la faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, ainsi que les doctorants de notre laboratoire pour leur aide dans la réalisation de la partie pratique de ce mémoire.

Nos sincères remerciements à l'INRF, en particulier à monsieur CHEKIRED Z., ainsi qu'à toute l'équipe du BNEDER pour l'aide précieuse qu'ils nous ont accordée.

Enfin, nous remercions l'Université Mouloud Mammeri pour nous avoir permis de rencontrer des professeurs soucieux de nous et de notre avenir ; de nous avoir formées et forgées.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents, pour leurs soutiens incessants, leurs prières, leurs encouragements
et leurs amours.*

A ma tante Ténin, pour ses encouragements et son amabilité.

A mes frères et sœurs, pour leurs bons conseils, leurs guides sur le droit chemin.

A mon mari, Koïta Ousmane, pour sa présence et son aide quotidienne dans ma vie.

A ma belle famille pour tous leurs amours.

A mon binôme, Kaci Sylia, pour sa gentillesse, son énergie et sa joie de vivre.

A tous les membres de la famille.

A tous (tes) mes amis (es) que je porte jour et nuit dans mon cœur.

A toute ma promotion, aux étudiants de la spécialité biodiversité et environnement.

DIALLO Dah Perpétue

Dédicace

Je dédie ce travail qui témoignera un peu de ma plus grande gratitude à mes parents, pour tous leurs efforts, soutiens et sacrifices fait à mon égard. Ainsi qu'à tous mes proches et mon entourage pour leur écoute, leur bienveillance, leur soutien et surtout leur patience.

Je dédie ce travail à ma chère binôme, DIALLO Dah Perpétue, on a passé de bons et de mauvais moments mais ça été une joie de partager toute cette pression ensemble et d'en rire et parfois en pleurer, tu as été une épaule très solide alors merci. Ainsi qu'à toi, petit être, on a évolué ensemble comme un vrai trinôme, j'espère qu'on t'a bien initié à la science avec tout nos discours lors de cette rédaction.

KACIS.

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations.	
Liste des figures.	
Liste des tableaux.	
Introduction	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Les carburants	3
I.2. Sources de pollution du sol aux carburants dans les stations-services	4
I.3. Devenir des carburants dans le sol.....	5
I.4. Effets écotoxicologiques des carburants	8
I.5. Techniques de décontamination des sols pollués par les carburants	8

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Présentation du site d'étude	15
II.2. Matériel.....	17
II.2.1. Sol	17
II.2.2. Souche bactérienne	17
II.2.3. Vers de terre.....	18
II.2.4. Fertilisants	18
II.2.5. Matériel végétal	18
II.3. Méthodes	19
II.3.1. Méthode d'échantillonnage	19
II.3.2. Dispositif expérimental.....	19
II.3.3. Analyses physico-chimiques des sols.....	20
II.3.4. Evaluation de l'efficacité des traitements.....	24
II.3.4.1. Indicateurs biologique de la qualité du sol	24
II.3.4.2. Analyse quantitative des hydrocarbures totaux	26
II.4. Analyse statistique des données	26

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats	27
------------------------	----

III.1.1. Station Boukhalfa.....	27
III.1.2. Station Ouadhias	33
III.1.3.Comparaison des deux stations	38
III.2. Discussion	44
Conclusion générale	46
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	

Liste des abréviations

BTEX : Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylènes

CO : Carbone organique

MO : Matière organique

NAFTAL : NAFT : Pétrole ; AL : Algérie

TG : Taux de germination

ER : Elongation racinaire

L₁ : 1^{ère} mesure de la longueur racinaire

L₂ : 2^{ème} mesure de la longueur racinaire

Liste des figures

Figure 1 : Composition d'une essence (A) et d'un gasoil (B)	4
Figure 2 : Sources de pollution du sol dans les stations-services	5
Figure 3 : Image satellitaire de la station-service de Boukhalfa.....	16
Figure 4 : Image satellitaire de la station-service des Ouadhias.	16
Figure 5 : Représentation schématique de la méthode d'échantillonnage	19
Figure 6 : Dispositif expérimental.....	20
Figure 7 : Activité biologique globale des différents sols.....	28
Figure 8 : Activité de la catalase des différents sols	29
Figure 9 : Quantité des hydrocarbures extraite des différents sols	30
Figure 10 : Taux de germination des graines maïs	30
Figure 11 : Elongation racinaire du maïs dans les différents sols.....	31
Figure 12 : Test d'écotoxicité sur les vers de terre	32
Figure 13 : Activité biologique globale des différents sols	34
Figure 14 : Activité de la catalase des différents sols.....	35
Figure 15 : Quantité des hydrocarbures extraite des différents sols	36
Figure 16 : Taux de germination du maïs.....	36
Figure 17 : Elongation racinaire du maïs dans les différents sols.....	37
Figure 18 : Test d'écotoxicité sur les vers de terre	38
Figure 19 : Activité biologique globale des deux stations	39
Figure 20 : Activité de la catalase dans les sols des deux stations.....	40
Figure 21 : Quantité des hydrocarbures extraite des sols des deux stations.....	40
Figure 22 : Taux de germination du maïs dans les deux stations.....	41
Figure 23 : Elongation racinaire du maïs dans les deux stations	42
Figure 24 : Différence de poids chez <i>Eisenia</i> après le test d'écotoxicité	43

Liste des tableaux

Tableau 1 : Biodégradabilité de quelques produits pétroliers	7
Tableau 2 : Impacts des carburants sur le sol et la végétation	8
Tableau 3 : Les procédés de phytoremédiation	10
Tableau 4 : Quelques travaux réalisés dans le cadre de la phytoremédiation	10
Tableau 5 : Quelques études réalisées sur la biostimulation et la bioaugmentation de sols pollués aux hydrocarbures	12
Tableau 6 : Procédés de bioremédiation ex situ	13
Tableau 7 : Résultats des analyses physico-chimiques du sol.....	27
Tableau 8 : Résultats des analyses physico-chimiques du sol.....	33

Introduction

L'Algérie possède une économie prédominée par l'énergie, les hydrocarbures représentant 95% des recettes d'exportation du pays (Business France, 2021).

L'une des principales sources de pollution de l'environnement est l'énergie, en particulier les hydrocarbures. En fonction du temps et l'espace, la nature et l'intensité, les effets de ces polluants changent (Koller, 2004).

La pollution due aux hydrocarbures pétroliers, particulièrement ceux issus des stations-service, peut causer dans l'environnement, un effet néfaste sur le sol, les animaux et les végétaux (Thavasi et *al.*, 2011).

Selon les données fournies par la société NAFTAL (2021), la wilaya de Tizi-Ouzou comporte 102 stations-service dont celles de Boukhalfa et des Ouadhias. Ces stations présentent un risque de pollution pouvant provenir des événements, des déversements lors du stockage ou de la distribution des carburants.

L'objectif des études sur la pollution d'un compartiment de l'environnement est de proposer des outils de remédiation adaptés à ce milieu et ensuite d'œuvrer pour sa décontamination. Parmi les outils proposés pour la dépollution, on peut rencontrer des traitements physiques, chimiques et thermiques qui sont fréquemment utilisés. Ils sont efficaces pour éliminer ou réduire plusieurs types de polluants. Ils sont, néanmoins, très coûteux et occasionnent souvent une détérioration du milieu (Girard et *al.*, 2005).

Cependant, il existe une autre alternative utilisant des moyens peu onéreux, peu technologiques et qui respectent l'environnement en sauvegardant les propriétés du sol (Adams et Guzman Osorio, 2008 ; Vidali, 2001). La technologie de bioremédiation offre l'opportunité de détruire ou de rendre inoffensifs divers contaminants en exploitant l'activité biologique naturelle (Vidali, 2001). Plusieurs travaux sur la bioremédiation ont été réalisés et ont montré leur efficacité (Chibane, 2013 ; Oultaf, 2015 ; Bourkache et Boussenou, 2015 ; Hadjou et Rabhi, 2015).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude, dont l'objectif est d'évaluer l'efficacité des techniques biologiques de remédiation pour décontaminer un sol pollué aux hydrocarbures dans deux stations-service différentes et de les comparer entre elles. Pour ce faire, nous avons appliqué la phytoremédiation, la bioaugmentation et la biostimulation afin de décontaminer des sols pollués aux carburants provenant des deux stations-service. Dans le but d'évaluer et de comparer l'efficacité de ces techniques, nous avons réalisé des bio-essais notamment avec

les vers de terre (*Eisenia*). En effet, l'écotoxicité des sols contaminés en hydrocarbures a fait l'objet de plusieurs études chez les vers de terre, en particulier le genre *Eisenia* (Sayles et al., 1999 ; Charrois et al., 2001 ; Sasek et al., 2003).

Ce travail est subdivisé en trois chapitres :

- ❖ Le 1^{er} chapitre consiste en une synthèse bibliographique portant sur l'étude de la pollution du sol par les hydrocarbures et les différentes techniques de décontamination ;
- ❖ Le 2^{ème} chapitre comporte la présentation des stations d'étude ainsi que le matériel et les méthodes expérimentales utilisés dans ce travail ;
- ❖ Le 3^{ème} chapitre présentera les différents résultats obtenus après chaque traitement ainsi qu'une discussion de ces résultats.

Une conclusion, présentant les principaux résultats et quelques perspectives, clôturera ce travail.

Synthèse bibliographique

Les hydrocarbures sont des substances organiques qui réunissent différents produits pétroliers comme l'essence, le kérosène, le gasoil, le fuel (Lemière et *al.*, 2001).

On parle de pollution par les hydrocarbures lorsqu'ils agissent directement sur la vie de l'homme de façon néfaste ou indirectement, si les populations animales et végétales utiles à l'homme sont affectées (Bertrand et Mille, 1989 *in* Guermouche M'rassi, 2014).

L'impact de la pollution par les hydrocarbures sur les milieux terrestres, en tant qu'éléments de la biosphère, varie en fonction des propriétés, de l'état de matière dans lequel se trouvent ces polluants mais aussi, selon les facteurs abiotiques et biotiques des milieux (Bocard, 2006).

I.1. Les carburants

Les carburants sont des mélanges combustibles, principalement constitués d'hydrocarbures (Lemière et *al.*, 2001). Les hydrocarbures sont des composés formés essentiellement d'atomes de carbone et d'hydrogène, de formule brute C_nH_m où (n) et (m) sont des entiers naturels. On distingue les hydrocarbures aliphatiques pouvant être saturés (alcane) ou insaturés (alcynes, alcènes), de chaîne droite, ramifié (ou iso-alcane) ou cyclique (Cycloalcane), et les hydrocarbures aromatiques monocycliques (BTEX) et polycycliques (HAP) (Colombano et *al.*, 2014).

Les carburants sont en général formés d'hydrocarbures aliphatiques, néanmoins, on note souvent la présence d'hydrocarbures aromatiques. Il existe deux types de carburants, lourds et légers (Saada et *al.*, 2005). Les carburants les plus fréquemment utilisés sont l'essence et le gasoil. Ils sont issus de la distillation du pétrole et sont nommés produits pétroliers raffinés (Colombano et *al.*, 2014).

I.1.1 Essence

L'essence est un liquide inflammable, actuellement utilisé comme carburant et solvant. C'est un mélange d'hydrocarbures légers contenant généralement 230 hydrocarbures différents (fig.1), qui possèdent entre 5 et 10 atomes de carbone (Lemière et *al.*, 2001). Son domaine de distillation varie de 30-35°C à 180-200°C (Marchal et *al.*, 2003). Elle est par ailleurs fortement odorante et très volatil (Colombano et *al.*, 2014).

I.1.2. Gasoil

La composition du gasoil diffère de celle de l'essence. Il est constitué de 2000 à 4000 hydrocarbures possédant entre 11 et 25 atomes de carbone (fig. 1), son domaine de distillation est compris entre 180 et 380°C (Marchal et *al.*, 2003). Le gasoil est un liquide contenant des composés plus lourds que ceux de l'essence et donc moins volatil. Il est utilisé comme carburant automobile et dans les chauffages (Lumière et *al.*, 2001).

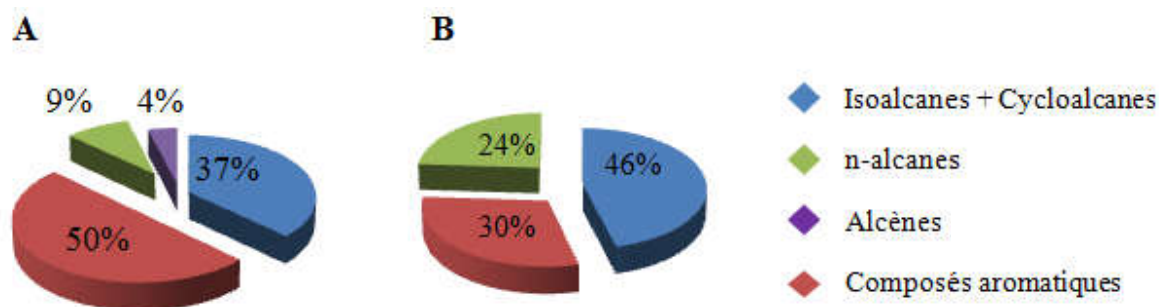


Fig. 1 : Composition d'une essence (A) et d'un gasoil (B) (Marchal et *al.*, 2003).

I.2. Sources de pollution du sol aux carburants dans les stations-service

Les hydrocarbures peuvent être libérés dans le sol de façon naturelle. Cependant, les activités humaines comme les industries de raffinages (rejets d'effluents gazeux et liquides), l'extraction, le transport (rupture de pipelines) de ces composés sont des sources importantes de pollution dans l'environnement (Ramade, 2007).

Dans le cas particulier des stations-service, qui sont des installations destinées au stockage et au transfert des carburants (fig. 2), la pollution peut provenir des îlots de pompes, d'une corrosion des cuves de stockage, d'un déversement lors du remplissage des cuves ou la distribution des carburants, des événements ou des canalisations entre les citernes et les îlots de pompes (Carnicer, 2007).

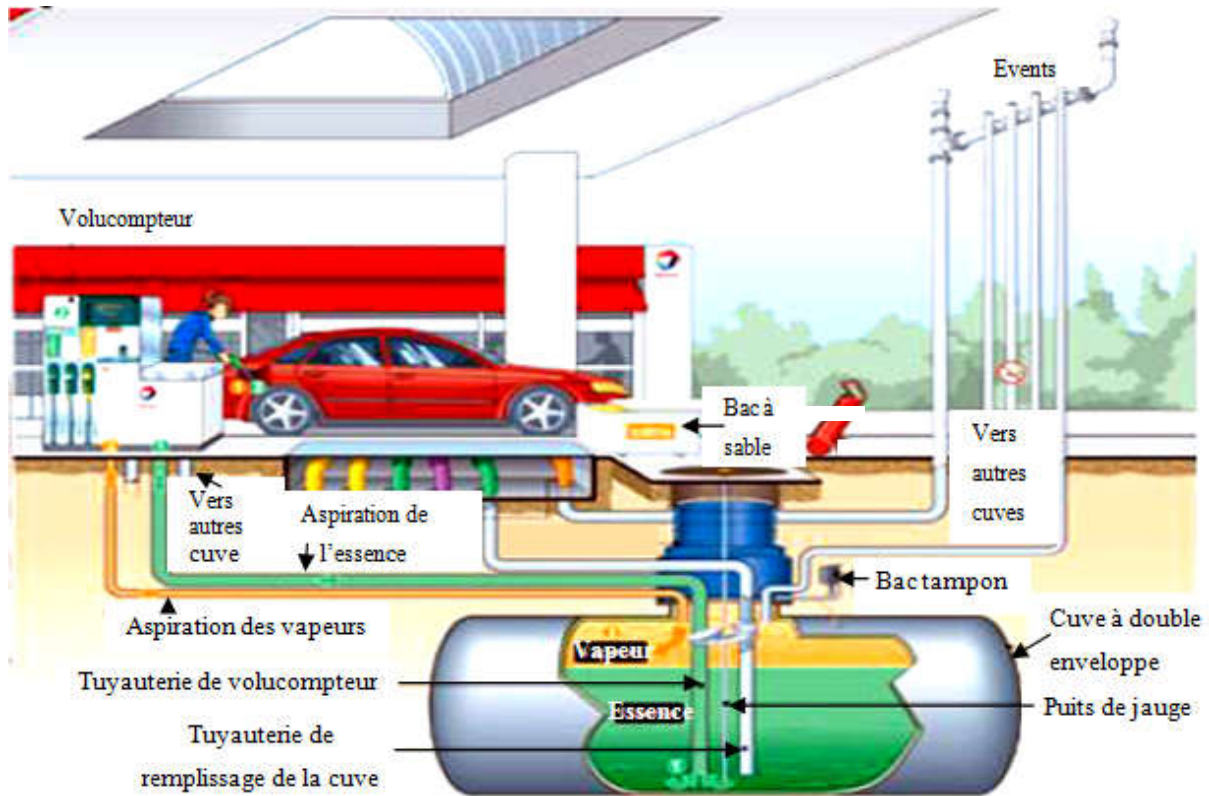


Fig. 2 : Sources de pollution du sol dans les stations-services (Carnicer, 2007).

I.3. Devenir des carburants dans le sol

Comprendre l'évolution des substances étrangères déversées dans les sols est important pour évaluer leurs impacts et aussi pour définir des stratégies d'intervention et de lutte contre les pollutions avec le choix des techniques les mieux adaptées (Bocard, 2006). Le devenir des carburants dans le sol dépend des propriétés intrinsèques de ces derniers et de celles du milieu atteint (Rivière, 1998).

I.3.1. Volatilisation

La volatilisation désigne le passage des substances du sol vers l'atmosphère. C'est le processus de dissipation le plus important car elle intervient dans les premières heures suivant le déversement, en particulier pour les hydrocarbures légers, plus le poids moléculaire d'un produit est faible plus sa volatilisation est importante (Colombano *et al.*, 2014).

Le processus de volatilisation est influencé par la solubilité de la substance dans les solutions aqueuses (plus la solubilité est élevée moins la substance se volatilise) (Koller, 2004). Selon Saada *et al.* (2005), il dépend également de la pression de vapeur de chaque composé, c'est-à-

dire plus la pression est élevée plus le composé est volatil (Pression supérieure à 133 Pa), de l'humidité du sol, qui diminue la quantité de pores disponibles pour le passage des vapeurs lorsqu'elle est élevée.

I.3.2. Solubilisation

La solubilisation est un phénomène par lequel les substances sont dissoutes dans l'eau. Les composés caractérisés par une solubilité élevée tendent à passer vers la phase aqueuse alors que les composés avec une faible solubilité restent dans la phase mélange (Koller, 2004). Les hydrocarbures qui ont un poids moléculaire faible et une polarité élevée sont les plus solubles et les plus dangereux pour l'environnement car ils sont difficiles à éliminer et ont une biodisponibilité élevée (Soltani, 2004).

I.3.3. Adsorption

L'adsorption est une propriété que possèdent certains corps solides. Il s'agit de retenir les molécules d'autres corps (à l'état gazeux ou liquide) à leur surface. On rencontre deux mécanismes d'adsorption : physique et chimique. Le premier met en jeu des forces électrostatiques et le second, des liaisons chimiques entre le solide adsorbant et le corps adsorbé (Saada et *al.*, 2005). Les hydrocarbures peuvent être adsorbés par la matière organique, qui est un adsorbant pour toutes sortes de substances organiques car elle réagit avec les groupes fonctionnels que refferment ces constituants (Koller, 2004). L'argile adsorbe également et facilement les polluants organiques car elle possède une surface spécifique élevée (Saada et *al.*, 2005).

I.3.4. Dégradation

Il s'agit d'un processus de décomposition de la molécule d'hydrocarbures (Triffault-Bouchet et *al.*, 2015), autrement dit le passage en molécules de plus en plus simples. La dégradation se fait par des processus abiotiques et biotiques.

❖ Dégradation abiotique

C'est la décomposition des hydrocarbures par des processus physico-chimiques et non biologiques. Les principaux processus par lesquels elle s'effectue sont : la photolyse, les réactions d'oxydoréduction et l'hydrolyse (Saada et *al.*, 2005).

❖ Dégradation biotique

C'est un processus de dépollution de l'environnement initié par les microorganismes comme les bactéries (Soltani, 2004), pour lesquelles, les hydrocarbures seront sources d'alimentation (Fattal, 2008). Ce processus peut être amélioré par l'apport de conditions favorables.

Ainsi, le degré d'altération et la vitesse de dégradation des hydrocarbures sont spécifiques à chaque déversement et sont influencés par différentes conditions comme la nature du produit déversé, les conditions environnementales et l'activité microbiologique du site (Colombano et al., 2014).

En effet, la nature du produit déversé peut influencer la biodégradation, qui sera faible lorsque la molécule hydrocarbonée possède un grand nombre d'atome de carbone, de ramifications ou de cycles aromatiques. La biodégradation dépend aussi de la disponibilité des éléments nutritifs, de la teneur en eau, de la température et du pH du sol, qui font partie des conditions environnementales qui conditionnent la présence et le développement des populations microbiennes. En ce qui concerne l'activité microbiologique du site, elle limite la biodégradation lorsque la biomasse microbienne du sol n'est pas importante ou si le sol ne possède pas de microorganismes aptes à la dégradation des hydrocarbures (Saada et al., 2005).

Dans la littérature, les microorganismes qui ont la capacité de dégrader les hydrocarbures, appartiennent à différents genres (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter sp.*, *Bacillus sp.*, etc.).

Aussi, Fattal 2008, a proposé des taux de biodégradabilité des produits pétroliers mettant en évidence la différence de biodégradabilité selon la nature des produits (tableau 1).

Tableau 1 : Biodégradabilité de quelques produits pétroliers (Oudot, 1996, IMO, 2004 in Fattal, 2008).

Produits pétroliers	Biodégradabilité (%)
Essence	90 – 100
Kérosène	80 –100
Gasols	60 –85
Pétrole brut	30 – 70

I.4. Effets écotoxicologiques des carburants

Le danger d'une substance survient lorsqu'elle interagit avec les êtres vivants ou entraîne des modifications dans la composition et le fonctionnement du milieu. Ainsi, les effets écotoxicologiques des carburants dans un milieu sont évalués par le cumul des dommages causés aux éléments physiques ou vivants du milieu (Bocard, 2006). Ces effets ont été mis en évidence par plusieurs études (tableau 2).

Tableau 2 : Impacts des carburants sur le sol et la végétation.

		Effets observés	Auteurs
Effets sur les propriétés du sol	Physiques et chimiques	<ul style="list-style-type: none"> -Modification de la structure du sol par recouvrement des agrégats. -Particules minérales enrobées conduisant à leur dispersion. - Augmentation de la rétention en eau et réduction de la mouillabilité. - Diminution du pH et une augmentation du taux de MO. -Augmentation de la conductivité électrique et les éléments traces métalliques. 	<ul style="list-style-type: none"> -Len et Gawel, 2001. -Rouquerol <i>et al.</i>, 1987 <i>in</i> Hamitouche et Henadci, 2018. -Mettaur <i>et al.</i>, 1987 <i>in</i> Saad et Dendani, 2017. -Dali et Iddir, 2018. -Chaineau <i>et al.</i>, 1997 <i>in</i> Hadjou et Rabhi, 2015.
	Biologiques	<ul style="list-style-type: none"> -Forte multiplication de la biomasse microbienne. 	<ul style="list-style-type: none"> -Hamitouche et Henadci, 2018.
Effets sur la végétation	-	<ul style="list-style-type: none"> - Phytotoxicité au niveau des feuilles : chlorose, inhibition de la photosynthèse. - Au niveau des racines : inhibition de la croissance et de l'élongation. 	<ul style="list-style-type: none"> Henner, 2000 <i>in</i> Dali et Iddir, 2018.

Néanmoins, il faut savoir que les impacts écotoxicologiques d'un polluant dépendent de deux paramètres principaux qui sont la concentration et la durée d'exposition (Ramade, 2007).

I.5. Techniques de décontamination des sols pollués par les carburants

La réhabilitation des sols pollués est un enjeu majeur qui nécessite la mise en place de techniques adaptées. A cet effet, un certain nombre de techniques développées (ou en développement) sont utilisées pour traiter ces terres polluées et peuvent impliquer des

processus physiques, chimiques, thermiques ou biologiques (Girard *et al.*, 2005). En fonction de la technique choisie, on peut faire des traitements *in situ* (sur le sol en place), *on site* (sur le site après excavation) ou *ex situ* (dans un centre de traitement de sols pollués).

I.5.1. Traitements physiques

Ces traitements consistent à utiliser des fluides présents dans le sol ou injectés en tant que vecteur pour véhiculer la pollution vers des points d'extraction ou dans le but de l'immobiliser (Colombano *et al.*, 2010).

I.5.2. Traitements chimiques

Ces traitements sont employés par usage des réactifs chimiques dans l'objectif de détruire les polluants, de les transformer en métabolites moins toxiques et/ou plus facilement biodégradables ou de changer leurs propriétés (mobilité, toxicité...) (Colombano *et al.*, 2010).

I.5.3. Traitements thermiques

Ils représentent une alternative de décontamination à usage courant de nos jours et sont efficaces contre de nombreux polluants. Ils font appel à des hautes températures pour détruire les substances polluantes (Koller, 2004).

I.5.4. Traitements biologiques

Ces techniques se sont beaucoup développées durant les dix dernières années et s'adressent à un grand éventail de polluants organiques ou non. Ils utilisent des processus biologiques qui diminuent la mobilité ou transforment les polluants en composés non (ou moins) toxiques à partir des microorganismes, des plantes par des enzymes qui stimulent ces processus (Girard *et al.*, 2005).

I.5.4.1. Phytoremédiation

C'est une technique biologique de remédiation qui utilise la capacité des espèces végétales à interagir avec les substances chimiques, organiques ou minérales pour assainir un terrain contaminé *in situ* (Cadiere, 2006). Les technologies de phytoremédiation comprennent également les interactions plantes-microorganismes, qui permettent de réduire l'exposition du substrat pollué aux humains, à la faune et à l'environnement. La phytoremédiation est particulièrement appréciée et jouit d'une popularité auprès du grand public en tant qu'alternative verte et propre (Leena Grace et Selvaraj, 2010).

Elle utilise des processus physiques, chimiques et biologiques pour dégrader, transformer ou stabiliser les contaminants du sol (tableau 3) (Kamath *et al.*, 2004).

Tableau 3 : Les procédés de phytoremédiation (Cadiere, 2006 ; Koller, 2004).

Techniques	Principes
Phytoextraction/ Phytoaccumulation	Extraction et accumulation des polluants dans les parties récoltables de la plante (feuilles, tige, les racines). En général, les polluants concernés sont les métaux.
Phytostabilisation	Immobilisation des polluants pour réduire le risque de contamination de la chaîne alimentaire et de la nappe phréatique. Les métaux sont les plus concernés.
Phytovolatilisation	Extraction puis libération du polluant (initial ou transformé) dans l'air par évapotranspiration.
Phytodégradation/ Phytotransformation	Dégradation des substances organiques absorbées ou adsorbées via des enzymes catalysant ; transformation en molécules plus simples, moins toxiques ou non toxiques dans les tissus de la plante. Il s'agit de rhizodégradation si les microorganismes de la rhizosphère maintenue par la plante dégradent le polluant.

L'efficacité de certaines plantes à dépolluer un sol contaminé aux hydrocarbures a été montrée par plusieurs auteurs (tableau 4).

Tableau 4 : Quelques travaux réalisés dans le cadre de la phytoremédiation.

Etudes réalisées	Résultats	Auteurs
Phytoremédiation des sols contaminés par le gasoil.	Décontamination très satisfaisante pour le pois chiche et satisfaisant pour le maïs et le sorgho.	Ould Rabah (2012)
Phytoremédiation de sol des borbiers de Hassi Massaoud.	Dissipation des hydrocarbures très satisfaisante par le ray grass (85,61%) et le trèfle (79,72%). La luzerne n'a pas supporté la contamination.	Kessi (2015)
Phytoremédiation <i>in situ</i> et <i>ex situ</i> d'un sol pollué par les carburants dans une station-service.	Décontamination très satisfaisante pour la fève comparativement à la luzerne et le maïs, aussi bien au laboratoire que sur le terrain.	Bourkache et Bousseou (2015)

Phytoremédiation de sols pollués par le fioul domestique (<i>Eleusine indica</i> , <i>Cynodon dactylon</i> , <i>Alternanthera sessilis</i> , <i>Commelinpa benghalensis</i> , <i>Cleome ciliata</i> et <i>Asystasia gangetica</i>).	Tolérance de trois espèces (<i>E. indica</i> , <i>C. dactylon</i> et <i>A. sessilis</i>) à la pollution aux hydrocarbures.	Nguemté et al. (2017)
Etude de l'efficacité de deux variétés de <i>Chlorophytum comosum</i> et de <i>Vicia faba</i> dans la décontamination de sol pollué aux carburants (essence super et gasoil) et l'influence de la pollution sur leur caractère phénolique.	Tolérance de la pollution à 6% de <i>Vicia faba</i> et des deux variétés de <i>Chlorophytum comosum</i> . Efficacité des 2 espèces dans la décontamination du sol.	Salmi et Salmi (2017)

I.5.4.2. Bioremédiation

Elle a pour principe d'utiliser les microorganismes, en particulier les bactéries, pour minimiser la pollution d'un site. Les microorganismes utilisés peuvent être endogènes ou exogènes du terrain contaminé (Cadiere, 2006). La bioremédiation peut être appliquée *in situ*, *on site* et *ex situ*.

Traitements *in situ*

❖ Atténuation naturelle

Elle correspond à la diminution naturelle en fonction du temps de la concentration en polluants. C'est une biodégradation lente qui est réalisée par l'activité microbienne intrinsèque des sols contaminés et en fonction des conditions du milieu (Girard et al., 2005).

❖ Biostimulation

La biostimulation est une technologie de traitement des sites contaminés par l'utilisation de micro-organismes pour détoxifier et dégrader les contaminants de l'environnement (Coulon et Dellile, 2003). Les microorganismes qui traitent les contaminants sont indigènes au milieu et ont besoin d'être stimulés par l'apport d'éléments nutritifs (N, P,...) car une teneur naturelle trop faible serait un facteur limitant (Bocard, 2006). L'ajout de nutriment ou d'oxygène au milieu, peut améliorer la croissance microbienne pour qu'il y ait une bonne élimination des contaminants en les utilisant de façon directe en tant que sources d'énergie et de carbone ou

indirectement par le biais de co-métabolisme (Semrany, 2014). Plusieurs travaux sont réalisés dans le cadre de la biostimulation (tableau 5).

❖ Bioaugmentation

Elle consiste à injecter des microorganismes dans le sol afin de favoriser ou d'améliorer la biodégradation (Colombano et al., 2010). On distingue la bioaugmentation autochtone, qui consiste à isoler à partir du milieu contaminé, un ou plusieurs microorganismes. Les microbes isolés sont ensuite cultivés dans une culture enrichie pour augmenter leurs biomasses puis réinjectés dans le milieu d'origine (Semrany, 2014). Elle est utilisée lorsque les microorganismes présents dans les sols ne sont pas capables de dégrader les polluants (Nassiri et al., 2010). Cette incapacité peut être due à une faible concentration en biomasse et/ou une grande concentration du polluant toxique.

On parle de bioaugmentation allochtone, lorsque l'on fait une culture de microorganismes exogènes qui seront par la suite injectés dans le milieu pollué pour sa décontamination (Alvarez et al., 2011). Quelques travaux réalisés sur la bioaugmentation ont montré l'efficacité de ce traitement pour la décontamination (tableau 5).

Tableau 5 : Quelques études réalisées sur la biostimulation et la bioaugmentation de sols pollués aux hydrocarbures.

Etudes réalisées	Résultats	Auteurs
Remédiation d'un sol pollué aux carburants par bioaugmentation.	Efficacité de la bioaugmentation avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pour la décontamination du sol pollué par les carburants.	Alik et Belkacem (2015)
Remédiation d'un sol pollué aux carburants par biostimulation. Cas des stations-service.	Efficacité de la biostimulation par ajout de N et P sur le terrain et non satisfaisant au laboratoire suite à l'augmentation de la salinité du sol.	Nait Abdelkader et Djenad (2015)
Bioremédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par bioaugmentation et biostimulation.	Diminution de la quantité de carburants dans le sol après traitement avec jumelage des deux techniques. Le taux de germination du blé dans le sol non traité est de 73,33% contre 81,33% pour le sol traité.	Hadjou et Rabhi (2015)
Bioremédiation de sol pollué au gasoil par des bactéries hydrocarbonoclastes.	Efficacité de la biostimulation et de la bioaugmentation par les consortiums bactériens (nord et sud algérien).	Aberkane et Ayache (2018)

❖ Bioventing

C'est un traitement biologique aérobie qui consiste en une injection d'air dans la zone non saturée par apport d'oxygène afin de stimuler la biodégradation (Colombano et *al.*, 2010). Elle nécessite que le terrain soit perméable (Girard et *al.*, 2005). Les polluants concernés par cette technique sont : les hydrocarbures totaux (essence, gasoil), BTEX, polluants biodégradables (Cadiere, 2006).

Traitements *ex situ*

Les traitements par excavation des terres aboutissent souvent à l'amélioration de l'efficacité de la remédiation biologique par opposition à une pratique *in situ*, car elle offre une possibilité de faire des prétraitements de conditionnement et d'avoir le contrôle des paramètres de la biodégradation (Bocard, 2006). Ces traitements présentent l'inconvénient d'engendrer un coût de dépollution plus élevé par rapport aux traitements *in situ* et *on site*, un risque de dispersion de la pollution lors du transport vers un centre spécialisé et également une modification des propriétés physico-chimiques et même biologiques du sol (Girard et *al.*, 2005). Ces méthodes sont présentées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Procédés de bioremédiation *ex situ* (Costes et Druelle, 1997 ; Girard et *al.*, 2005 ; Bocard, 2006).

Méthodes	Principe
Landfarming	Etaler du sol avec une faible épaisseur sur de grandes surfaces préparées, puis appliquer un traitement suivant les pratiques agricoles : arrosage et usage de fertilisants pour augmenter l'humidité et l'activité microbienne. Il est essentiel d'assurer une aération périodique de la terre par retournement, à l'aide d'engins spécialisés (tracteur, etc.)
Compostage	Faire une excavation et une mise en tas du sol, ajouter des nutriments, mise en andain et ajout de support organique pour accélérer l'activité microbienne.
Bioréacteur	Obtenir un mélange boueux par ajout du sol dans une phase aqueuse avec des additives, par la technologie du bioréacteur, qui assure les conditions optimales de biodégradation (pH, O ₂ , nutriments) le polluant sera accessible et détruit par les microorganismes.

Traitements *on site*

Ces traitements sont aussi intéressants car les technologies mises en application sont plus légères et donc moins coûteuses comparées à celles utilisées pour les traitements *ex situ*. Le risque de dispersion du polluant est nul car le traitement s'effectue au sein d'une installation adéquate sur le site pollué. Les propriétés du sol sont affectées car le traitement implique également une excavation. Le sol excavé est étalé en couches plus ou moins épaisses sur une surface étanche, deux techniques sont couramment utilisées (Costes et Druelle, 1997) :

- Le traitement en terre dynamique « Landfarming » (tableau 6) ;
- Le traitement en terre statique « Bioterre ».

Le bioterre suit les mêmes étapes de préparation de la terre que le traitement en terre dynamique. Cependant, la différence réside dans le mode d'aération, qui se fera par insufflation ou aspiration d'air par l'intermédiaire de drains perforés (Costes et Druelle, 1997).

Matériel et méthodes

L'étude expérimentale entreprise dans ce mémoire est effectuée sur des sols contaminés par des rejets d'essence et de gasoil, prélevés au niveau de deux stations-service. L'objectif de cette étude est de décontaminer ces échantillons en utilisant des techniques de bioremédiation et de réaliser des essais biologiques pour évaluer l'efficacité de ces techniques. Les expériences ont été réalisées au laboratoire de pathologie des écosystèmes de la faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

II.1. Présentation des sites d'étude

Les stations-service auxquelles nous nous sommes intéressées sont celle située à Boukhalfa et celle localisée aux Ouadhias qui sont des stations du secteur privé.

II.1.1. Station-service de Boukhalfa

Elle est située sur la route nationale n°12 qui relie Alger à Tizi-Ouzou. La station possède une grande capacité de stockage des carburants (essence et gasoil), qui se font dans des cuves allant de 20 à 50m³. Ces cuves sont souterraines et sont au nombre de cinq (5), chacune est reliée à un système d'évent, permettant l'échappement des gaz.

En dehors de la zone échantillonnée, l'enceinte de la station est entièrement bétonnée avec des dalles de 25 à 30cm. Malgré cette précaution pour éviter l'infiltration vers la nappe, les déversements accidentels lors de la distribution des carburants n'étant pas pris en charge présentent un risque de contamination pour la nappe phréatique et pour les terres agricoles situées à proximité de la station (fig. 3).



Fig. 3 : Image satellitaire de la station-service de Boukhalfa (Google earth, 2021).

II.1.2. Station-service des Ouadhias

Cette station-service se trouve au niveau de la daïra des Ouadhias située dans la Wilaya de Tizi-Ouzou. Elle possède trois réservoirs de stockage de carburants (essence et gasoil) allant de 30 à 40m³. C'est également une station entourée de terres agricoles cultivées, ce qui présente un risque de contamination du sol et des cultures (Fig. 4).



Fig. 4 : Image satellitaire de la station-service des Ouadhias (Google Earth, 2021).

II.2. Matériel

II.2.1. Sols

II.2.1.1. Station de Boukhalfa

L'échantillonnage a été effectué sur un sol présentant une contamination chronique et ponctuelle par des rejets d'essence et de gasoil s'échappant des événements. Le point de prélèvement est mis en évidence après une observation de la parcelle, qui nous a permis de déceler un sol dépourvu de toutes végétations et dont la couleur était foncée.

L'échantillonnage a eu lieu le 10/03/2021, trois prélèvements à la diagonale ont été réalisés, ces derniers ont ensuite formé un échantillon composite. Les prélèvements correspondent à la couche superficielle du sol (0-25cm).

Au laboratoire, le sol a été étalé afin qu'il sèche avant toute utilisation puis tamisé. Un tamis à maille de 2mm a été utilisé pour les échantillons de sol soumis à des analyses physico-chimiques et un autre de 5mm utilisé pour la réalisation des analyses biologiques.

II.2.1.2. Station des Ouadhias

Le prélèvement a été fait le 13/03/2021, sur une profondeur allant de 0 à 25cm. Le sol échantillonné est exposé à une source de pollution ponctuelle et chronique due à des déversements d'essence et de gasoil lors du remplissage des réservoirs de stockage à proximité. Ces déversements se traduisent par une absence de couverture végétale et une noirceur du sol, ce qui justifie le choix du point d'échantillonnage. La méthode d'échantillonnage et de préparation du sol au laboratoire sont similaires à celle de Boukhalfa.

II.2.2. Souche bactérienne

Pour la bioaugmentation, nous avons utilisé une souche de *Pseudomonas aeruginosa* (bactérie pyrocyanique) obtenue au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences biologiques et agronomiques de Tizi-Ouzou. C'est une bactérie à Gram négatif, non sporulée, fine, mobile grâce à un flagelle polaire. Elle a un métabolisme oxydatif. Sa température optimale de croissance varie entre 30 et 37°C (Essoh, 2013). Selon Rojo (2009), cette bactérie possède des propriétés qui lui permettent de dégrader les hydrocarbures.

II.2.3. Vers de terre

Les vers de terre sont des organismes essentiels aux sols compte tenu de leur rôle dans la circulation de l'air et de la solution du sol, la structuration et dans la minéralisation de la matière organique.

Dans le but de réaliser un essai biologique avec les vers de terre, nous avons choisi le genre *Eisenia*, qui est couramment utilisé. Le choix de ce ver est justifié par sa sensibilité aux hydrocarbures, ce qui fait de lui un bon indicateur de la qualité du sol et un bon candidat pour les essais de toxicité aigüe (ISO, 2012). Nos vers sont obtenus à partir d'un fumier de la commune Makouda.

II.2.4. Fertilisants

Afin d'appliquer la technique de biostimulation, les sols ont été enrichis avec de l'azote et du phosphore sous forme de sels.

II.2.4.1. Phosphate de potassium monobasique

C'est un sel formé des ions phosphate et potassium, de couleur blanche, de formule chimique KH_2PO_4 et de poids moléculaire 136,09g/mol.

II.2.4.2. Sulfate d'ammonium

De formule chimique $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, il est de couleur blanchâtre et a un poids moléculaire de 132,14g/mol.

II.2.5. Matériel végétal

II.2.5.1. Fève

Pour la phytoremédiation, nous avons utilisé la fève qui est une plante herbacée et annuelle dont le nom scientifique est *Vicia faba*. Elle fait partie de la famille des légumineuses. Plusieurs études se sont intéressées à cette plante dans l'optique d'une décontamination de sols contaminés aux hydrocarbures et elle s'est révélée efficace pour le traitement de ces sols (Chibane, 2013 ; Bourkache et Boussanou, 2015 ; Kabri et Taibi, 2016 ; Salmi et Salmi, 2017).

II.2.5.2. Maïs

C'est une plante herbacée annuelle appartenant à la famille des graminées, son nom scientifique est *Zea mays*. Elle est considérée comme une espèce sensible à la pollution par les hydrocarbures (Chaîneau et *al.*, 1996).

Nous avons réalisé un test de germination avec des graines de maïs compte tenue de cette sensibilité, ce qui nous permettra d'évaluer l'efficacité des traitements effectués. Dans un sol décontaminé, le taux de germination des graines de cette plante sera élevé. Inversement, si le sol présente encore une forte pollution aux carburants, ce taux demeurera faible.

II.3. Méthodes

II.3.1. Méthode d'échantillonnage

La parcelle est située en face de la source de pollution, elle mesure 100cm de long et 80cm de large. A l'intérieur de celle-ci, nous avons effectué trois prélèvements en diagonale avec des quadras de 25cm de côté.

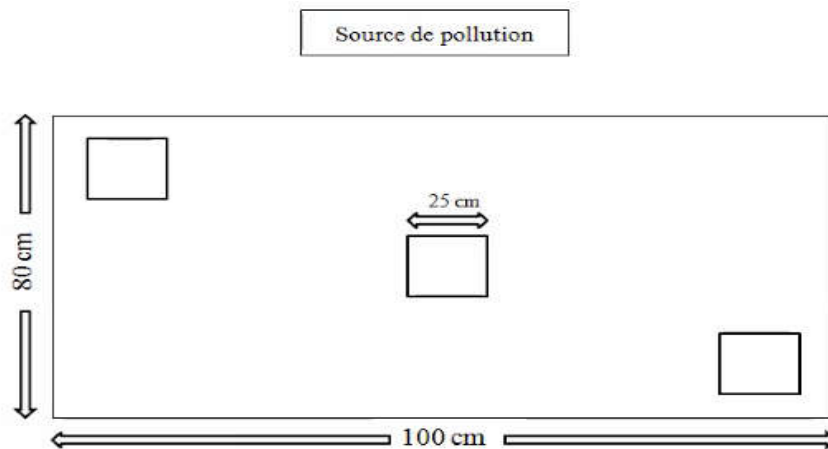


Fig. 5 : Représentation schématique de la méthode d'échantillonnage

II.3.2. Dispositif expérimental

Le sol prélevé des deux stations a été traité par phytoremédiation, bioaugmentation et biostimulation suivant la méthode indiquée dans la figure 6. Cinq répétitions ont été effectuées pour chaque cas.

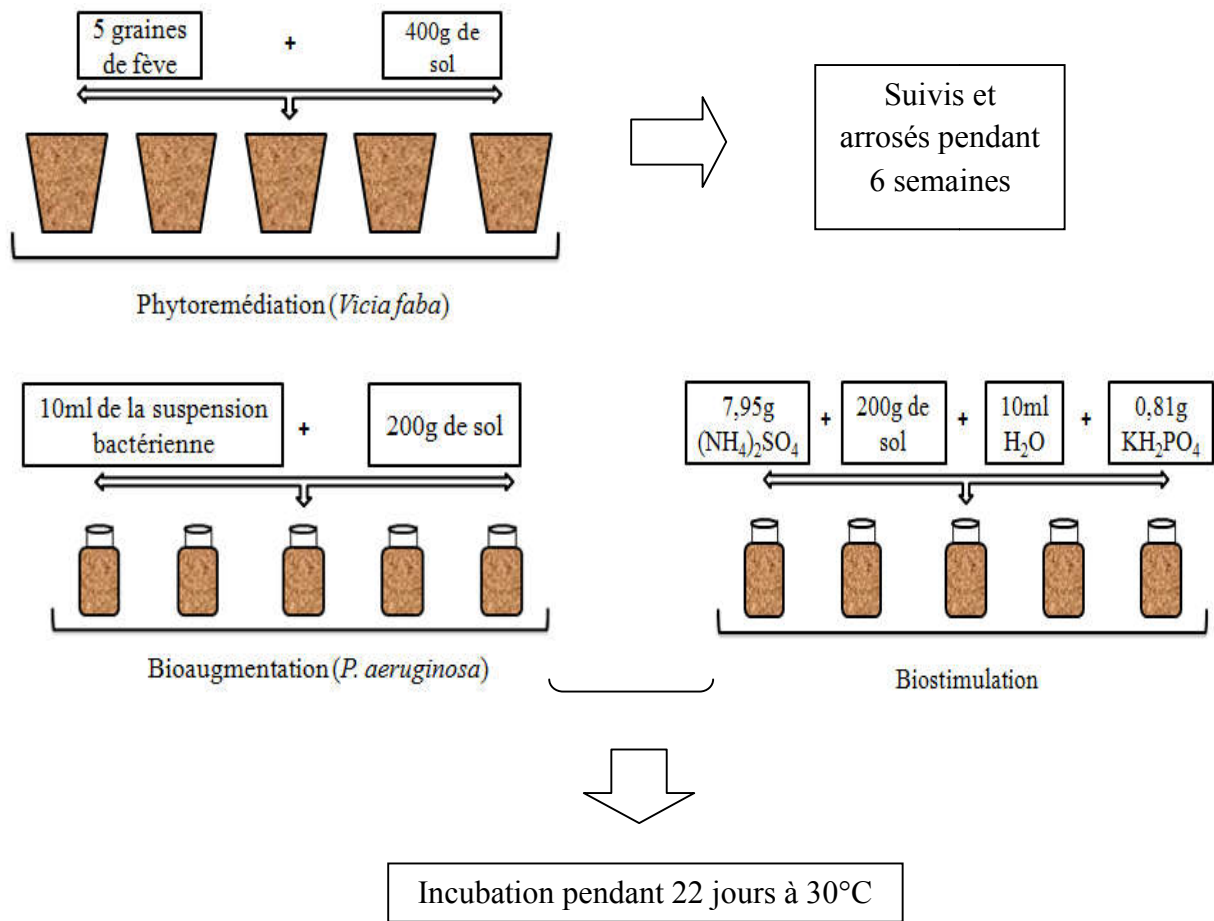


Fig. 6 : Dispositif expérimental

II.3.3. Analyses physico-chimiques des sols

Ces analyses ont été effectuées au niveau de l'Institut National de la Recherche Forestière (INRF) et du Bureau National d'Etude pour le Développement Rural (BNEDER).

II.3.3.1. Azote total

Le dosage de l'azote total est réalisé par la méthode de Kjeldahl. Elle a pour principe de transformer l'azote des composés organiques en azote ammoniacal. L'oxydation de la matière organique par H₂SO₄ conduit à la formation de l'ammoniaque puis l'azote est fixé par l'acide à l'état de (NH₄)₂SO₄. La minéralisation est achevée en présence d'un catalyseur ensuite l'ammoniaque formée est déplacée de sa combinaison en présence d'une quantité de NaOH en excès, distillée et recueillie dans de l'acide borique. Le complexe obtenu est titré avec de l'acide sulfurique.

Norme : AFNOR NF ISO 11261 (X31-111)**II.3.3.2. Matière organique**

La matière organique est dosée par la méthode Anne (1945). Le dosage du carbone organique (CO) est une étape importante à la détermination de la teneur en MO du sol. A chaud, le CO est oxydé en présence d'un excès de bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) en milieu sulfurique. L'excédent de $K_2Cr_2O_7$ n'ayant pas réagi est titré par une solution de sel de Mohr en présence de diphénylamine. Le virage se fait à la goutte et la couleur passe successivement par le bleu foncé, le brun, le violet puis le vert.

Sachant que la MO contient en moyenne 58% de CO : $100/58 = 1,72$ donc :

$$MO\% = CO\% * 1,72$$

1,72 : Coefficient de passage du carbone à la matière organique

Norme : AFNOR NF X 31-109**II.3.3.3. Rapport C/N**

Le rapport carbone/azote du sol renseigne sur le bon fonctionnement du sol (la vitesse de dégradation de la matière organique).

II.3.3.4. Potentiel hydrogène (pH)

La méthode utilisée consiste à préparer une suspension de sol dans l'eau (rapport 2/5) dans laquelle on mesure le pH après décantation (30min).

II.3.3.5. Calcaire total ($CaCO_3$ %)

Le dosage du calcaire total est effectué avec la méthode du calcimètre de Bernard. Le calcaire contenu dans l'échantillon de terre est dissout par l'ajout de l'acide chlorhydrique. Le volume de gaz carbonique dégagé par la réaction est mesuré à l'aide d'une burette à gaz, le calcimètre de Bernard. On réalise la même réaction avec le carbonate de calcium pur à la même température et de pression atmosphérique puis on mesure le gaz carbonique dégagé. En comparant les deux volumes, on obtient la teneur en calcaire du sol.

II.3.3.6. Conductivité électrique (CE)

Elle indique les teneurs en sels solubles dans un échantillon de sol, c'est-à-dire son degré de salinité. Le principe de la méthode est basé sur l'extraction d'un électrolyte (solution extraite) dans lequel on mesure la concentration en éléments dissous. Cette mesure se fait grâce à une cellule conductimétrique que l'on plonge directement dans l'électrolyte. L'électrolyte est extrait selon un rapport sol-eau égal à 1/5. La CE est exprimée en mmho.cm^{-1} ou dS.m^{-1} à une température de 25°C .

Norme : AFNOR NF ISO 10-970

II.3.3.7. Humidité hygroscopique (H %)

C'est la perte de poids que subit une quantité de terre séchée. Le principe de la méthode utilisée consiste à peser une quantité de terre avant et après séchage à l'étuve à 105°C pendant 24h.

$$H\% = \frac{\text{Poids}(air) - \text{Poids}(105^{\circ}\text{C})}{\text{Poids}(air)} \times 100$$

Poids (air) : poids de terre séchée à l'air ;
Poids (105°C) : poids de terre après séchage à l'étuve

II.3.3.8. Phosphore assimilable (P_2O_5)

La méthode utilisée est la méthode TRUOG, qui définit le phosphore assimilable comme étant le phosphore soluble dans l'acide sulfurique 1N, le milieu est tamponné à pH 3 par addition de sulfate d'ammonium. Après extraction, on ajoute les réactifs du dosage, qui est un mélange d'acide ascorbique, ammonium molybdate, tartrate double d'antimoine, potassium hydraté et d'acide sulfurique. La teneur du phosphore est déterminée avec un colorimètre auparavant étalonné par des solutions étalons du phosphore.

II.3.3.9. Perméabilité (K de HENIN)

La grandeur K est aussi appelée la conductivité hydraulique et s'exprime en centimètre par heure. Elle a pour principe de mesurer la quantité d'eau qui passe à travers une colonne de terre et s'effectue sur un sol remanié. Le coefficient K est calculé avec la formule provenant de la loi de Darcy.

$$K = Q.L/H.S$$

Q : quantité d'eau percolée (ml/h)
 L : la longueur de la colonne de terre (cm)
 H : la charge d'eau dans la colonne (cm)
 S : la surface de la section de la colonne (cm²)

Norme : AFNOR NF X31-515

II.3.3.10. Analyse granulométrique

La méthode utilisée est la méthode internationale modifiée par l'utilisation de la pipette de Robinson.

Norme : AFNOR NF X31-107

II.3.3.11. Indice de stabilité (Is)

L'indice de stabilité est déterminé en utilisant la moyenne arithmétique des pourcentages d'agrégats stables, le pourcentage le plus élevé de particules inférieures à 20 microns (Argile + limon fin) et le pourcentage des sables grossiers.

$$I_s = \frac{\% \text{ maximum des particules } < 20 \text{ microns}}{\% \text{ moyens des agrégats } - 0,9 \text{ sables grossiers}}$$

Norme : AFNOR NF X31-515

II.3.3.12. Métaux lourds, bases échangeables, les oligo-éléments

Dans un tube en verre à bout effilé, introduire du coton hydrophile puis ajouter 30g de bille en verre et 10g de sol, une première percolation est faite progressivement avec 150ml d'acétate d'ammonium, les ions récupérés sont ensuite dosés avec un spectrophotomètre d'absorption atomique.

Norme : AFNOR NF ISO 14870 (X31-427) (métaux lourds)

Norme : AFNOR NF X31-108 (bases échangeables)

Norme : AFNOR NF X31-120 (oligo-éléments)

II.3.3.13. Capacité d'échange cationique (CEC)

Elle fait suite à la percolation qui a eu lieu lors du dosage des métaux lourds, des bases échangeables et des oligo-éléments par une deuxième percolation à base d'alcool (100ml) pour rincer le sol et éliminer l'excès des ions NH₄⁺. Le réactif Nessler est utilisé pour vérifier le rinçage qui est confirmé avec l'apparition de la couleur jaune.

On utilise 10% de solution KCl ou de NaCl pour une troisième percolation, dans le but de déplacer les ions NH_4^+ fixés dans le complexe. Le dosage des ions récupérés est effectué par colorimétrie à l'indophénol, il s'agit de la méthode Berthelot.

Norme : AFNOR NF X31-120

II.3.4. Evaluation de l'efficacité des traitements

II.3.4.1. Indicateurs biologiques de la qualité du sol

II.3.4.1.1. Activité biologique globale

La méthode décrite par Dommergues (1968) a été utilisée pour déterminer l'activité biologique globale des sols. Elle a été évaluée par le test respirométrique.

Dans un flacon de 250ml, on introduit un échantillon de sol (100g) dans lequel on place deux tubes à hémolyse, l'un contenant 3ml d'eau pour éviter le dessèchement du sol et l'autre 5ml de NaOH à 0,5N. Le tube contenant du NaOH permet de fixer la quantité de CO_2 dégagée par la respiration des microorganismes. Le flacon est ensuite placé dans l'incubateur durant 7 jours à 28°C.

Après incubation, la soude contenue dans le tube est titrée par l'acide sulfurique à 0,25N en présence de phénolphthaléine. La fin de la titration est marquée par la disparition de la couleur rose violacée.

II.3.4.1.2. Activité de la catalase

C'est une activité enzymatique qui indique la qualité du milieu. La méthode de détermination utilisée est celle de Guan (1986), elle consiste à ajouter 1,25ml de H_2O_2 à 0,3% et 10ml de tampon phosphate (pH 7) à une prise d'essai de 2,5g de sol. Le mélange réactionnel est incubé à 25°C pendant 20min. Pour arrêter la réaction 1,25ml de H_2SO_4 à 3mol.l^{-1} ont été ajoutés à la solution obtenue après l'incubation. L'étape de séparation est effectuée par une centrifugeuse à 4500 tr/min pendant 5min. Le surnageant est titré par une solution de KMnO_4 à $0,02\text{mol.l}^{-1}$ jusqu'au virement à la couleur rose clair. Le nombre de moles de H_2O_2 a été utilisé pour quantifier cette activité.

II.3.4.1.3. Test de germination

Ce test permet d'observer l'effet des hydrocarbures sur la germination des graines de maïs et d'apprécier l'efficacité des différents traitements réalisés sur les échantillons de sol. Le sol des deux stations a été traité de la même manière. Le taux de germination est établi à partir

des sols issus des différents traitements (bioaugmentation, biostimulation, phytoremédiation) et de sol témoin (non traité).

Nous avons semé 10 graines de maïs dans des boîtes de Pétri contenant 100g de sol, trois (3) répétitions ont été effectuées pour les différents échantillons. Les graines germées sont dénombrées au bout de 2 semaines et le taux de germination (TG) est calculé comme suit :

$$TG (\%) = \frac{\text{nombre de graines germées}}{\text{nombre de graines semées}} \times 100$$

II.3.4.1.4. Elongation racinaire

Une semaine après le semis des graines de maïs, nous avons mesuré la longueur racinaire des graines germées (L_1). Ces graines ont été enfouies à nouveau dans leurs sols respectifs tout en tenant compte de leurs emplacements d'origines. Une deuxième mesure a été effectuée 7 jours après (L_2).

Cette opération permet d'observer la croissance des racines en mesurant leur élongation (ER) qui est calculée par la formule suivante:

$$ER (\text{cm}) = L_2 - L_1$$

II.3.4.1.5. Essai de toxicité sur les vers de terre

Dans des pots contenant 100g de sol, nous avons mis trois individus de vers de terre adultes d'une masse comprise entre 0,77 et 0,87g. Ces vers sont mis en contact des sols traités et témoins, 3 répétitions ont été effectuées pour chaque sol. L'objectif de l'essai était de mesurer le poids des vers avant et au bout de 14 jours d'exposition.

II.3.4.2. Analyse quantitative des hydrocarbures totaux

Cette analyse permet d'évaluer la quantité d'hydrocarbures contenus dans le sol avant et après traitement. L'extraction des hydrocarbures est réalisée par agitation mécanique d'une solution contenant 5g de sol et 25ml d'hexane placée dans un flacon de 250ml. Après agitation pendant 4 heures, le contenu du flacon est récupéré dans un tube à centrifuger puis placé dans une centrifugeuse à 4500 tr/min pendant 15min. Le surnageant a été récupéré dans une boîte de Pétri préalablement pesée et laissé à l'air libre jusqu'à évaporation totale du solvant. Après

évaporation, la quantité des hydrocarbures résiduels dans le sol est obtenue par pesée. Pour chaque sol, 3 répétitions ont été effectuées.

II.4. Analyse statistique des données

Les résultats des bio-essais et de la quantification des hydrocarbures ont été soumis à un test de comparaison de plusieurs échantillons indépendants en utilisant le logiciel R.3.6.1. L'analyse de la variance à un critère de classification (traitement appliqué au sol) est le test adopté lorsque la normalité et l'égalité des variances sont vérifiées. Dans le cas contraire, c'est le test de Kruskal-Wallis qui a été utilisé. Dans le cas où les différences sont significatives, un classement des moyennes est effectué par le test post-hoc approprié. Pour comparer les deux stations entre elles, les données sont soumises au test de Student à deux échantillons indépendants (cas où la normalité et l'égalité des variances sont vérifiées) ou au test de Mann-Whitney (cas de données non gaussiennes ou de variances inégales).

Résultats et discussion

III.1. Résultats

Nous avons réalisé une décontamination des sols pollués aux hydrocarbures à partir de trois techniques biologiques. Dans le but d'évaluer l'efficacité de ces techniques, on a effectué des tests permettant d'apprécier la qualité biologique du sol.

III.1.1. Station Boukhalfa

III.1.1.1. Analyses physico-chimiques du sol

L'analyse du sol a donné les résultats mentionnés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Résultats des analyses physico-chimiques du sol

Analyse	Résultats	Analyses	Résultats
N%	0,35	K Henin (cm/h)	0,26
CO	2,09	Is	0,41
MO	3,60	P ₂ O ₅ (ppm)	137,40
C/N	6	CEC	22,07
pH	8,26	Fe ⁺⁺ (ppm)	0,3525
CaCO ₃ %	18,56	Mn ⁺⁺ (ppm)	0,14
CE	0,20	Zn ⁺⁺ (ppm)	4,4925
H%	8,26	Cu ⁺⁺ (ppm)	0,2723
K ⁺ (meq/100g)	1,07	Pb (ppm)	1,9538
Na ⁺ (meq/100g)	0,67	Cd (ppm)	0,0000
Ca ⁺⁺ (meq/100g)	13,85	Cr (ppm)	1,0035
Mg ⁺ (meq/100g)	5,97	Ni (ppm)	0,1185

Le sol de cette station possède une texture très fine argilo limoneuse (A = 40,70% ; L = 51,28% ; S = 8,02%), qui est chimiquement riche, mais aux propriétés physiques très mauvaises (milieu imperméable et mal aéré, empêchant une pénétration harmonieuse des racines, travail du sol difficile en raison de la compacité).

Selon les normes d'interprétation (annexe I), ce sol est très riche en azote, avec une valeur supérieure à 0,25% et possède un rapport C/N faible (<8). Ces résultats indiquent une bonne fertilité du sol ainsi qu'une bonne activité biologique conduisant à une minéralisation rapide de la MO. Les valeurs du pH, de la conductivité électrique et de la teneur en calcaire du sol,

le classe comme moyennement alcalin (7,9-8,4), non salin ($< 0,6$) et modérément calcaire (12,5- 25%).

III.1.1.2. Activité biologique globale

L'activité biologique dans les différents sols est exprimée en quantité de carbone du CO_2 dégagé. Les résultats obtenus (fig. 7) montrent que l'activité biologique est plus intense dans les sols traités que dans le témoin (9,3mg). La valeur la plus élevée a été obtenue dans le sol traité par la phytoremédiation (25,2mg), suivi du sol traité par la bioaugmentation (24,3mg) puis celui traité par la biostimulation (20,6mg).

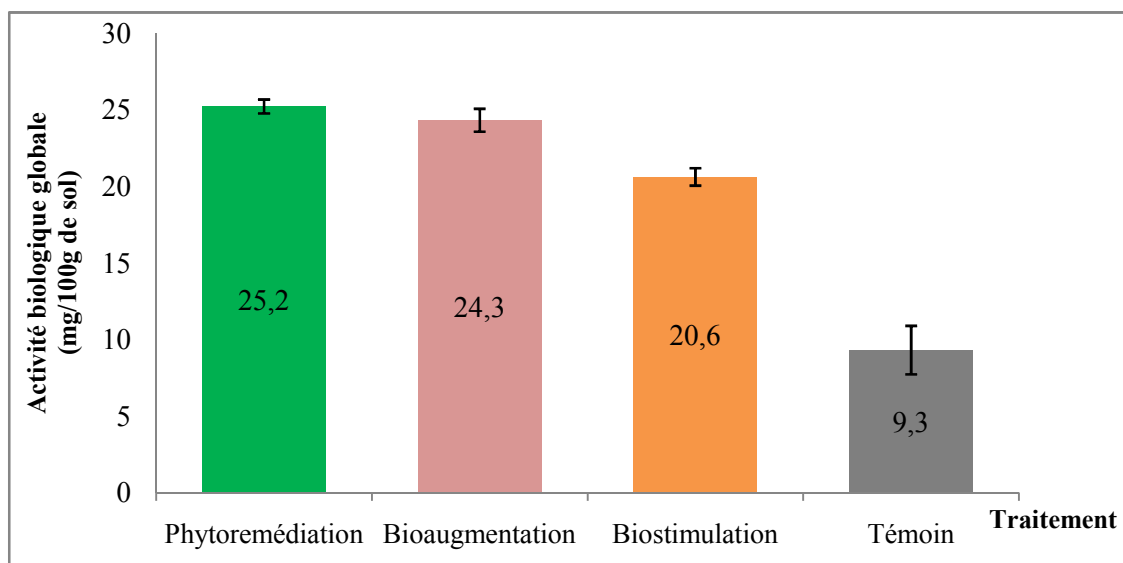


Fig. 7 : Activité biologique globale des différents sols

Le test de Kruskal-Wallis (annexe VII) révèle qu'il y a une différence significative entre l'activité biologique globale mesurée dans les différents sols (p -value = 0,02245). Ce qui signifie que le traitement a un effet significatif sur l'activité des microorganismes.

Le test post-hoc de Kruskal-Wallis (annexe VIII) a classé les différents traitements en 3 groupes homogènes. La phytoremédiation et la bioaugmentation sont classées dans le groupe « a », la biostimulation dans le groupe « b » et le témoin dans le groupe « c ». Ce classement nous permet de conclure que la phytoremédiation et la bioaugmentation ont eu la même efficacité et ont amélioré l'activité biologique du sol par rapport à la biostimulation.

III.1.1.3. Activité de la catalase

La figure 8 illustre l'activité de la catalase mesurée dans les différents sols, elle est exprimée en volume de peroxyde d'oxygène catalysé. On remarque que l'activité enzymatique des microorganismes est plus élevée dans le sol témoin et celui traité par phytoremédiation avec un volume catalysé de 0,97ml. Une valeur moins élevée a été obtenue avec la biostimulation (0,91ml) et la bioaugmentation (0,85ml).

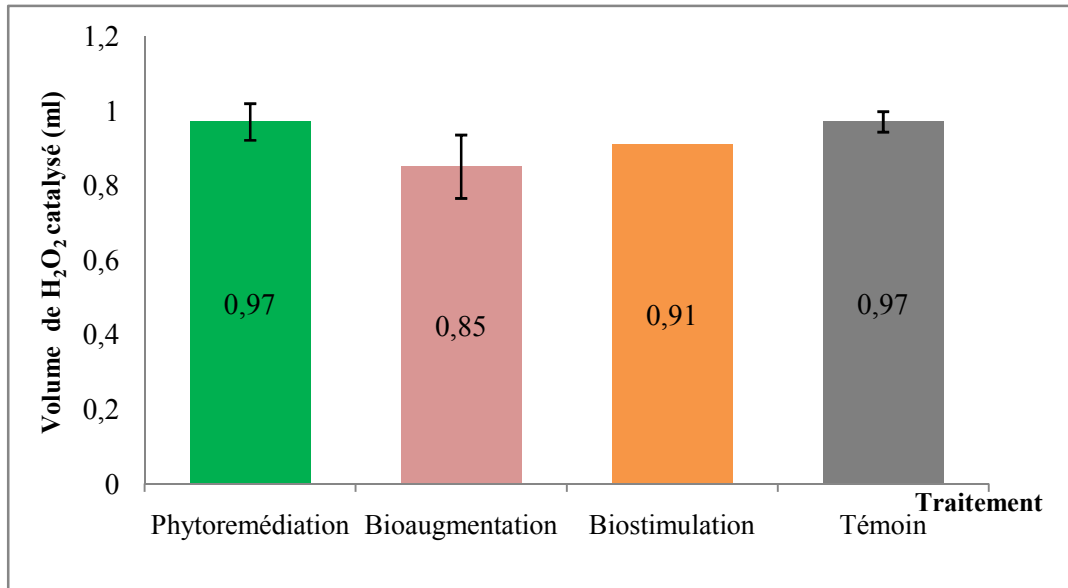


Fig. 8 : Activité de la catalase des différents sols

Le test de l'anova (annexe IX) révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre les volumes de H₂O₂ catalysés dans les différents sols (p-value = 0,4841). Ce qui signifie que le traitement n'a pas eu d'effet sur l'activité enzymatique de la catalase.

III.1.1.4. Analyse quantitative des hydrocarbures totaux

La figure 9 présente les résultats obtenus après la quantification des hydrocarbures dans les différents sols. On constate une diminution de 0,005g dans les sols traités par bioaugmentation et biostimulation contre une valeur initiale de 0,01g, soit une réduction de 50% de la quantité des hydrocarbures. Dans le sol traité par la phytoremédiation, on a enregistré une quantité de 0,006g, soit une baisse de 40% par rapport au sol non traité.

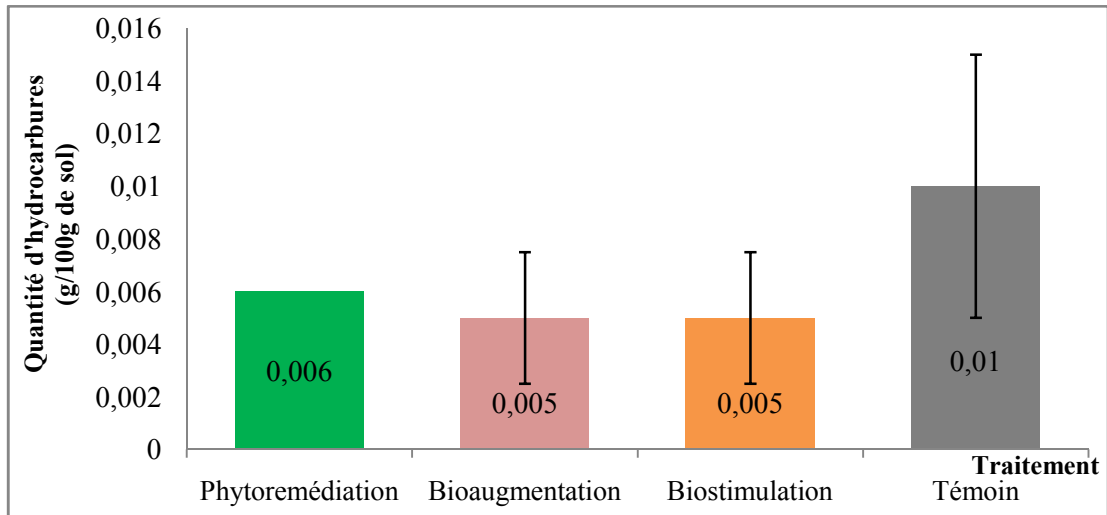


Fig. 9 : Quantité des hydrocarbures extraite des différents sols

Le test de l'anova (annexe IX) révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre les moyennes de la variable « quantité des hydrocarbures » avec une p-value = 0,7505. Ce qui signifie que le facteur « traitement » n'a pas d'effet sur la quantité des hydrocarbures.

III.1.1.5. Test de germination

Les résultats du test de germination obtenus à partir des différents sols sont présentés dans la figure 10. On remarque que le taux de germination a augmenté dans les sols traités par la phytoremédiation (100%) et par la bioaugmentation (96,66%) par rapport au témoin, qui présente également un bon pourcentage malgré sa contamination par les hydrocarbures (93,33%). Pour la biostimulation, aucune germination n'a été enregistrée.

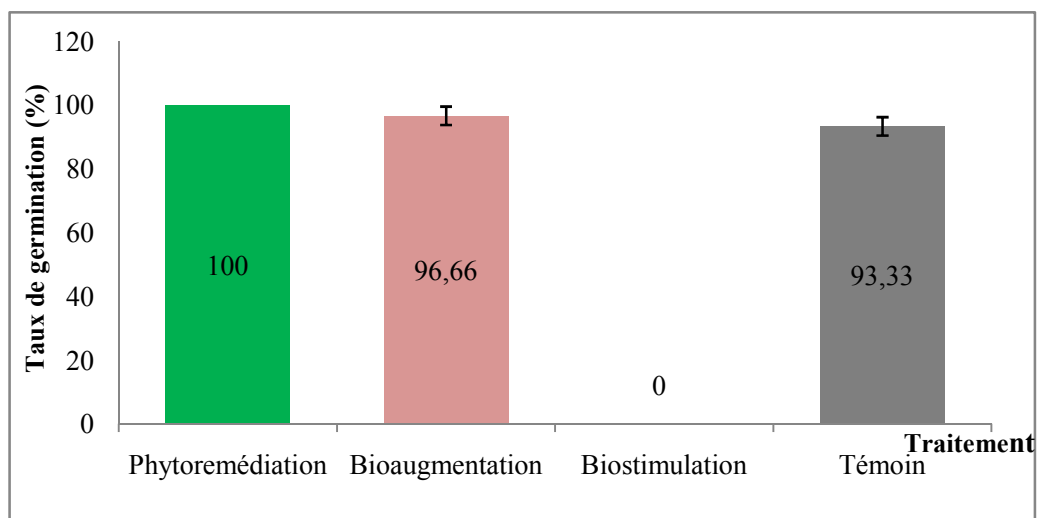


Fig. 10 : Taux de germination des graines de maïs

Le résultat du test de Kruskal-Wallis (annexe VII) révèle qu'il y a une différence significative entre les moyennes de la variable « taux de germination » pour les différents traitements (p -value = 0,04126). Ceci nous permet de dire que le traitement a eu un effet sur la germination des graines de maïs.

Le classement des moyennes des rangs par le test post-hoc de Kruskal-Wallis (annexe VIII) a donné 2 groupes homogènes. La phytoremédiation, la bioaugmentation et le témoin sont classés dans le groupe « a » et la biostimulation dans le groupe « b ». Ce classement indique que le sol témoin a subi une décontamination par les microorganismes indigènes (atténuation naturelle).

III.1.1.6. Elongation racinaire

Les résultats montrent que l'élongation racinaire est plus élevée dans le sol traité par la bioaugmentation, suivi du sol traité par la phytoremédiation, puis le sol témoin avec des croissances respectives de 3,81 ; 3,67 et 0,75cm. Sur les deux semaines de l'expérience, les graines plantées dans le sol traité par la biostimulation n'ont pas germé donnant ainsi une croissance racinaire nulle (fig. 11).

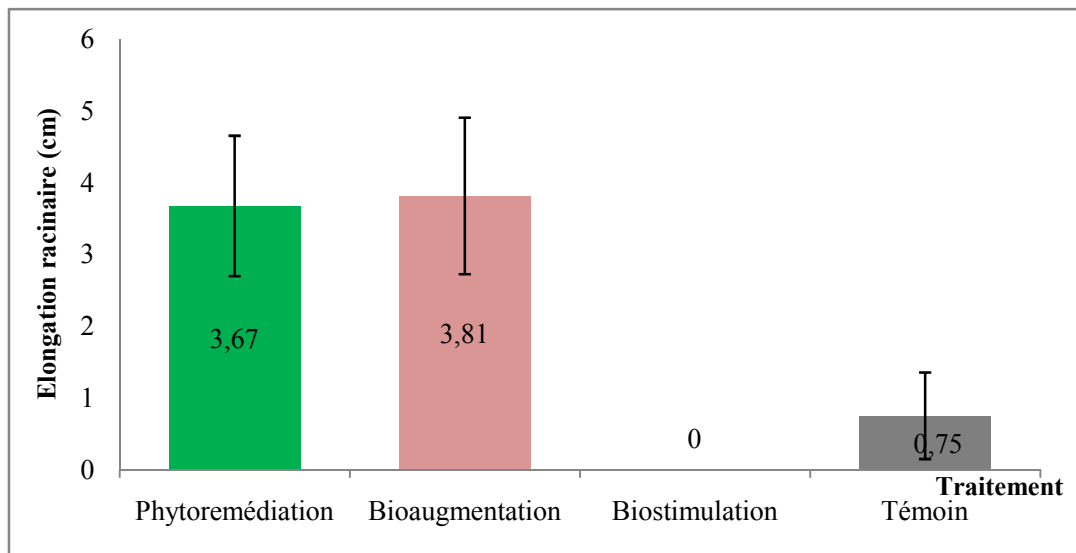


Fig. 11 : Elongation racinaire du maïs dans les différents sols

Le test de Kruskal-Walis (annexe VII) révèle qu'il y a une différence significative entre l'élongation racinaire du maïs des différents sols (p -value = 0,02233). Ce qui nous permet de conclure que le sol a un effet sur la croissance racinaire des graines.

Le test post-hoc de Kruskal-Wallis (annexe VIII) a classé les différents traitements en 3 groupes homogènes. La bioaugmentation et la phytoremédiation dans le groupe « a », le témoin dans le groupe « b » et la biostimulation dans le groupe « c », cela indique encore une fois que la bioaugmentation et la phytoremédiation ont eu la même efficacité.

III.1.1.7. Essai de toxicité sur les vers de terre

Le test de toxicité aigüe effectué sur *Eisenia* a donné les résultats présentés dans la figure 12.

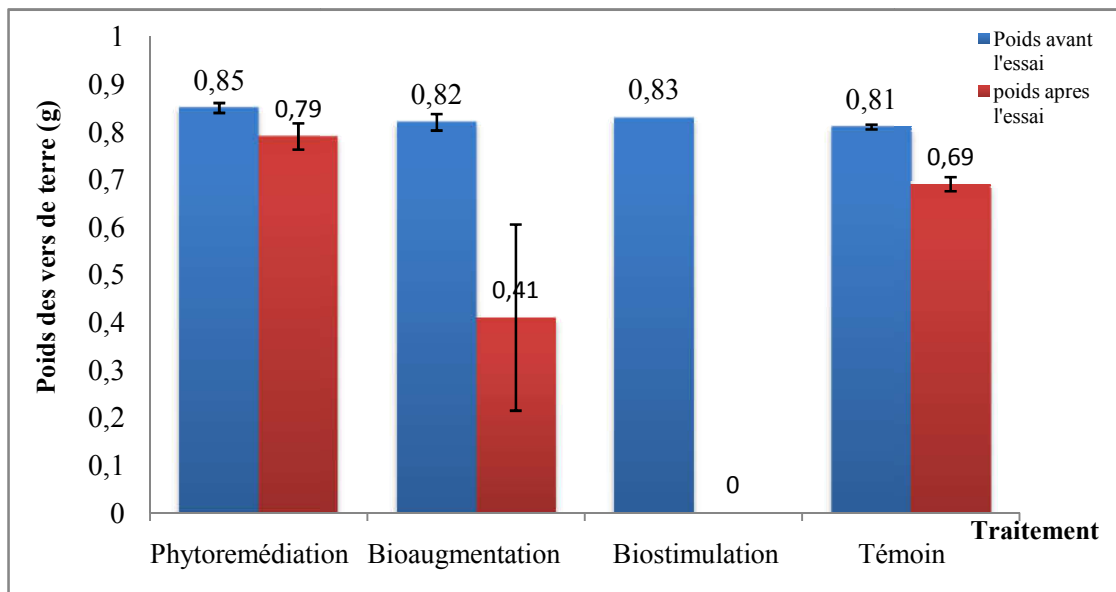


Fig. 12 : Test d'écotoxicité sur les vers de terre

On constate qu'au bout de 14 jours, il y a une diminution du poids des vers dans la majorité des sols. Néanmoins, elle est plus importante dans le sol traité par la bioaugmentation (0,41g) suivit par le sol témoin (0,12g) et enfin celui de la phytoremédiation (0,06g). Quant au sol de la biostimulation, les vers n'ont pas survécu au bout des premières minutes de l'expérience d'où la valeur nulle du poids.

L'analyse de ces données par le test de Kruskal-Wallis (annexe VII) révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre les moyennes de la variable « poids des vers de terre » des différents sols (p -value = 0,1242). Ce qui nous permet de déduire que le traitement n'a pas d'effet sur le poids des vers.

III.1.2. Station Ouadhias

III.1.2.1. Analyses physico-chimiques du sol

Les résultats de l'analyse du sol sont consignés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Résultats des analyses physico-chimiques du sol

Analyse	Résultats	Analyses	Résultats
N%	0,21	K Henin (cm/h)	3,51
CO	3,94	Is	0,41
MO	6,78	P ₂ O ₅ (ppm)	272,51
C/N	19,00	CEC	16,40
pH	7,77	Fe ⁺⁺ (ppm)	0,29
CaCO ₃ %	0,50	Mn ⁺⁺ (ppm)	0,04
CE	0,24	Zn ⁺⁺ (ppm)	0,000
H%	2,52	Cu ⁺⁺ (ppm)	2,5208
K ⁺ (meq/100g)	0,79	Pb (ppm)	3,03075
Na ⁺ (meq/100g)	0,51	Cd (ppm)	0,0000
Ca ⁺⁺ (meq/100g)	21,33	Cr (ppm)	6,32850
Mg ⁺ (meq/100g)	3,46	Ni (ppm)	1,22775

Le sol a une texture fine limono argileuse (A = 32,07% ; L = 34,93% ; S = 37,97%) indiquant que le sol est battant (tendance du sol à se tasser en surface sous l'effet de la pluie et à former une croûte imperméable à l'eau et à l'air), colmatant, ce qui a pour effet d'asphyxier les racines et les organismes vivants.

D'après les normes d'interprétation (annexe I), ce sol est classé dans la catégorie « sol riche », avec un taux d'azote compris entre 0,15 et 0,25% et un rapport C/N considéré comme relativement élevé (> 12). Ces résultats indiquent une activité biologique dégradante réduite conduisant à une humification de la matière organique. Le pH, la conductivité électrique et la teneur en calcaire du sol le classent comme légèrement alcalin (pH= 7,77), non salin (CE < 0,6) et non calcaire (< 5%).

III.1.2.2. Activité biologique globale

D'après la figure 13, l'activité biologique est plus intense dans les sols traités que dans le témoin (10,1mg). La biostimulation a enregistré la plus grande valeur (20,4mg), suivi de la bioaugmentation (16,8mg) et enfin le sol traité par phytoremédiation (13mg).

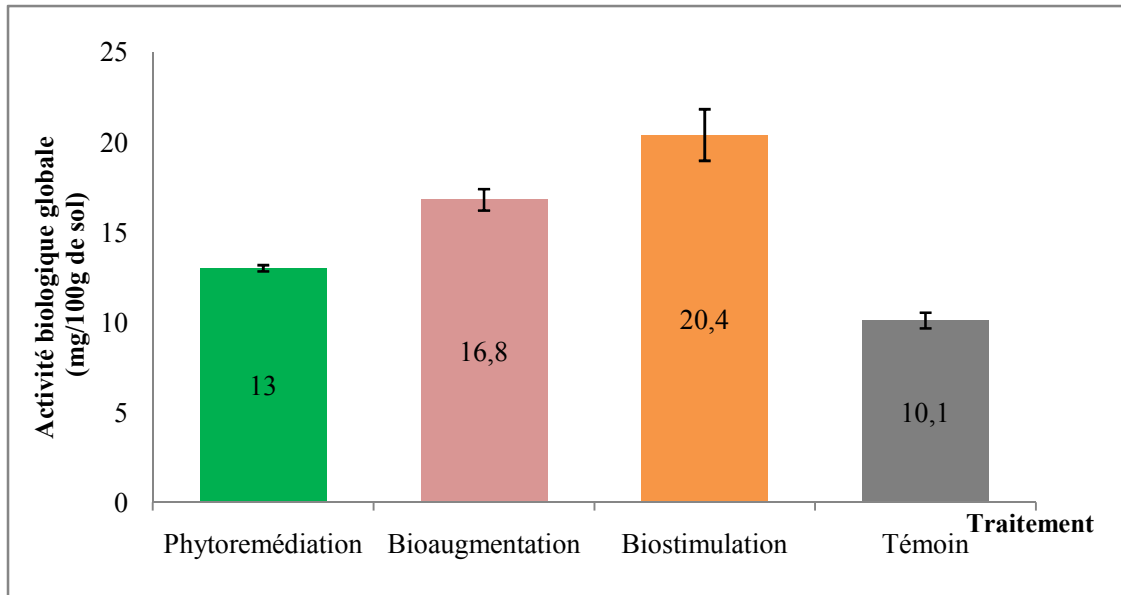


Fig. 13 : Activité biologique globale des différents sols

L'analyse de ces données par le test de l'anova (annexe IX), révèle qu'il y a une différence très hautement significative entre l'activité biologique mesurée dans les différents sols ($p\text{-value} = 2,83.10^{-5}$). Ce qui nous permet de conclure que le traitement a un effet sur l'activité des microorganismes.

Le test de Newman-Keuls (annexe X) a classé les différents traitements en 4 groupes homogènes. La biostimulation est classée dans le groupe « a », la bioaugmentation dans le groupe « b », la phytoremédiation dans le groupe « c » et le témoin dans le groupe « d ». Ce classement indique que les sols n'ont pas agité de la même façon sur l'activité biologique et que les traitements n'ont pas eu la même efficacité.

III.1.2.3. Activité de la catalase

On remarque, dans la figure 14, qu'il y a une augmentation de l'activité enzymatique des sols traités par rapport au témoin (0,99 ml). La plus élevée a été enregistrée avec la phytoremédiation (1,11ml), suivi de la bioaugmentation (1,04ml), puis de la biostimulation (1,02ml).

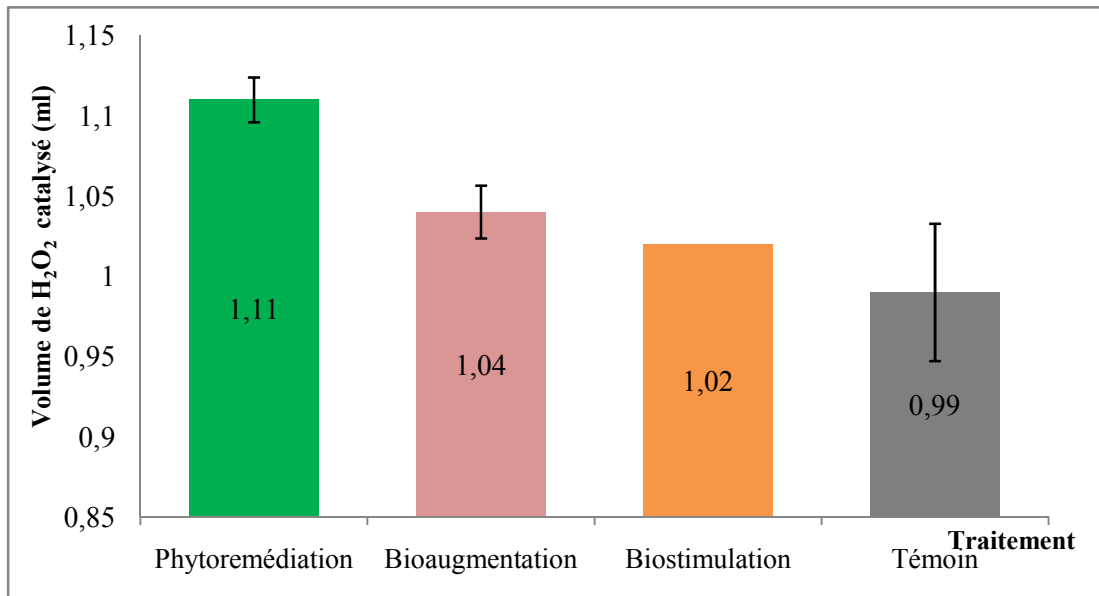


Fig. 14 : Activité de la catalase des différents sols

Le test de l'anova (annexe IX) révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre les volumes de H₂O₂ catalysé dans les différents sols (p-value = 0,08348). Ce qui signifie que le traitement n'a pas d'effet sur l'activité enzymatique du sol.

III.1.2.4. Analyse quantitative des hydrocarbures totaux

La figure 15 présente les résultats obtenus après l'évaluation quantitative des hydrocarbures dans les différents sols. La quantité d'hydrocarbures a baissé dans tous les sols traités en comparaison avec le témoin (0,045g). Cette diminution est plus importante dans les sols ayant subi la bioaugmentation et la biostimulation dans lesquels les quantités d'hydrocarbures résiduels sont respectivement de 0,02g et 0,03g, puis dans celui traité par la phytoremédiation avec 0,035g.

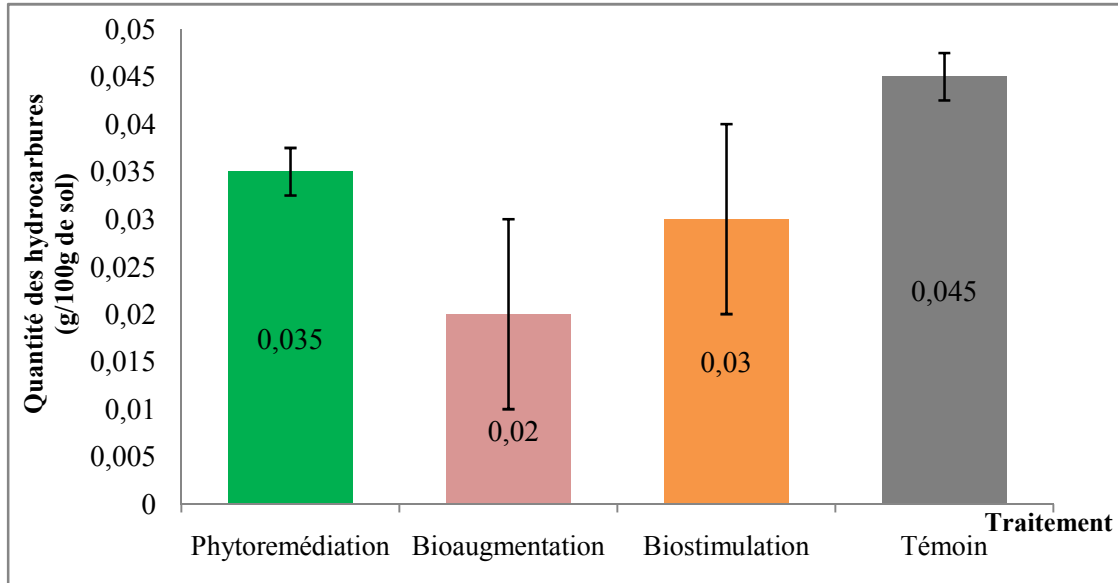


Fig. 15 : Quantité des hydrocarbures extraite des différents sols

Le résultat du test de l'anova (annexe IX) révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre la quantité d'hydrocarbures des différents sols (p -value = 0,28). Ce qui nous permet de dire que le traitement n'a pas d'effet sur le taux des hydrocarbures.

III.1.2.5. Test de germination

Les résultats du taux de germination du maïs des différents sols sont illustrés dans la figure 16.

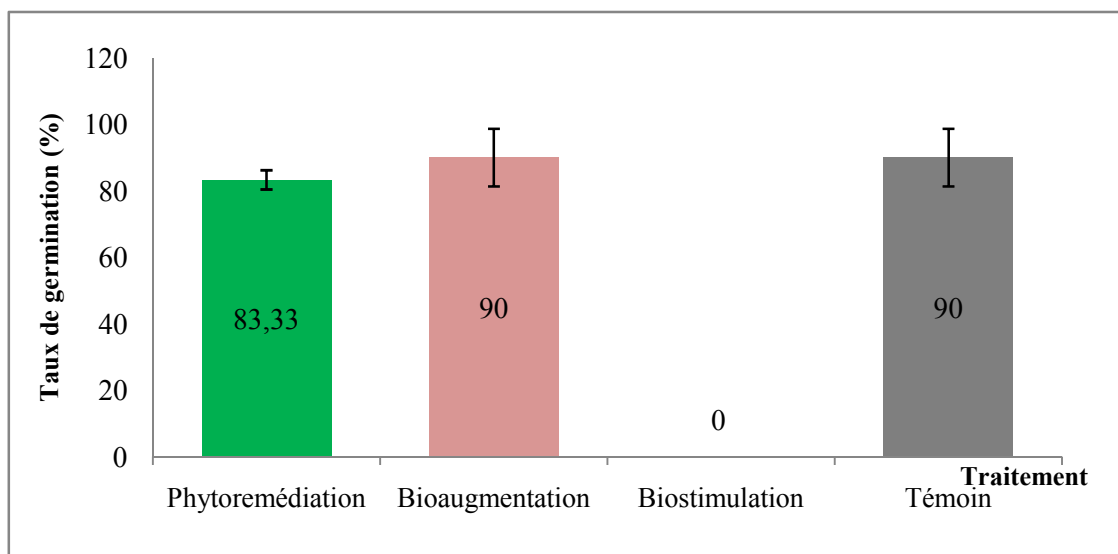


Fig. 16 : Taux de germination du maïs

Les résultats montrent qu'il y a eu germination dans les sols traités par la phytoremédiation et la bioaugmentation ainsi que dans le sol témoin mais aucune graine n'a germé dans celui traité par la biostimulation. Le témoin présente une bonne germination, malgré la contamination du sol, avec un taux de 90%, équivalent à celui obtenu après la bioaugmentation et supérieur à celui enregistré après la phytoremédiation (83,33%).

Le test de Kruskal-Wallis (annexe VII) révèle qu'il n'y a pas une différence significative entre les moyennes du taux de germination du maïs (p -value = 0,07297). Ce qui signifie que le facteur « traitement » n'a pas d'effet sur la variable quantitative mesurée.

III.1.2.6. Elongation racinaire

D'après la figure 17, la valeur de l'élongation racinaire la plus élevée est enregistrée dans le sol traité par la phytoremédiation (0,67cm), suivi du sol témoin (0,55cm), puis celui traité par la bioaugmentation (0,33cm). Enfin, le sol traité par la biostimulation n'ayant pas permis aux graines de germer, cette mesure n'a pas pu être réalisée.

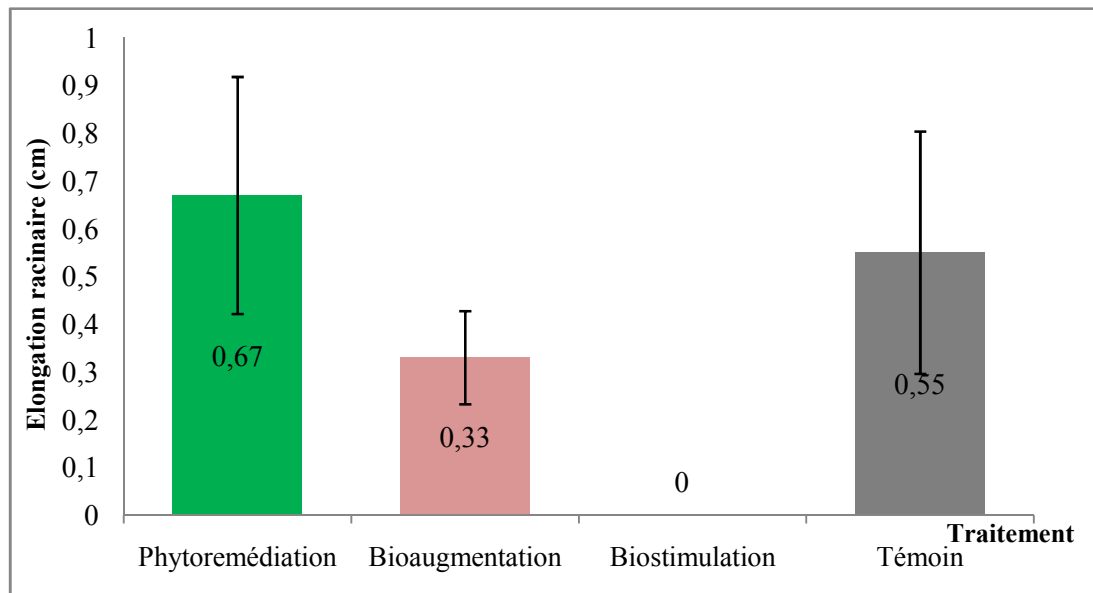


Fig. 17 : Elongation racinaire du maïs dans les différents sols

Le test de l'anova (annexe IX) révèle qu'il n'y a pas une différence significative entre l'élongation racinaire du maïs dans les différents sols (p -value = 0,2031). Ce qui nous permet de conclure que le traitement n'a pas d'effet sur la croissance racinaire des graines.

III.1.2.7. Essai de toxicité sur les vers de terre

Les résultats obtenus après le test de toxicité aigüe sur *Eisenia* sont illustrés dans la figure 18.

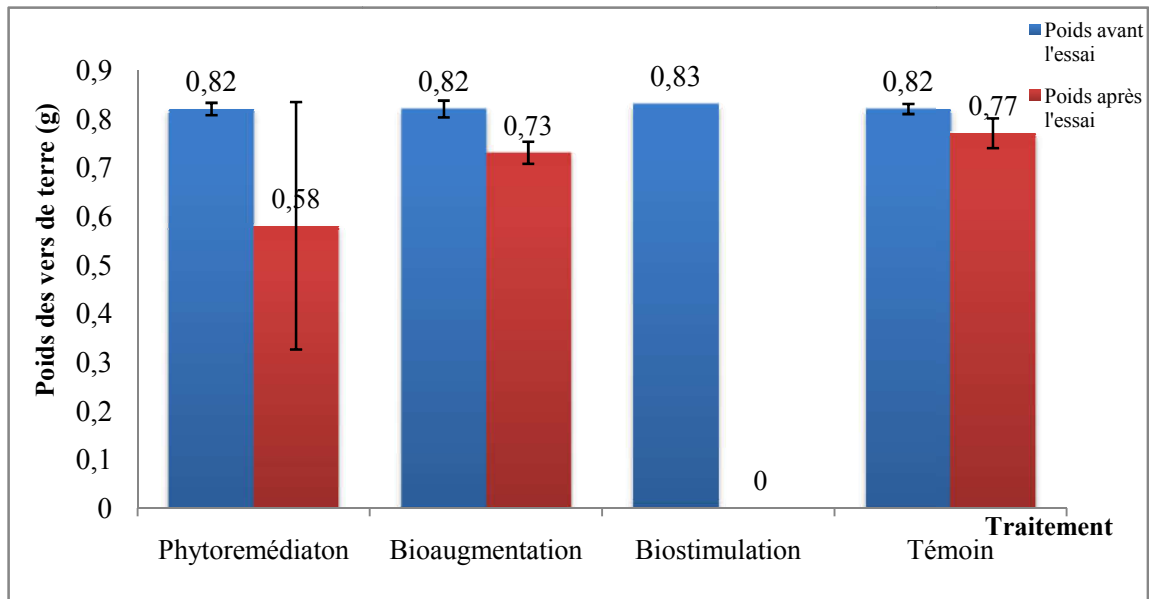


Fig. 18 : Test d'écotoxicité sur les vers de terre

Les résultats du test nous a permis de constater une diminution du poids des vers dans les sols de la phytoremédiation (0,24g), de la bioaugmentation (0,09g) et du témoin (0,05g) au bout de 14 jours d'essai. Concernant le sol de la biostimulation, les vers n'ont pas survécu au bout des premières minutes de l'essai d'où la valeur nulle du poids.

L'analyse de ces données par le test de Kruskal-Wallis (annexe VII) révèle qu'il n'y a pas une différence significative entre les moyennes de la variable « poids des vers de terre » des différents sols (p -value = 0,07816). Ce qui nous permet de déduire que le traitement n'a pas d'effet sur le poids des vers.

III.1.3. Comparaison des deux stations

III.1.3.1. Activité biologique globale

La figure 19 illustre l'activité biologique globale du sol (traité et non traité) dans les deux stations.

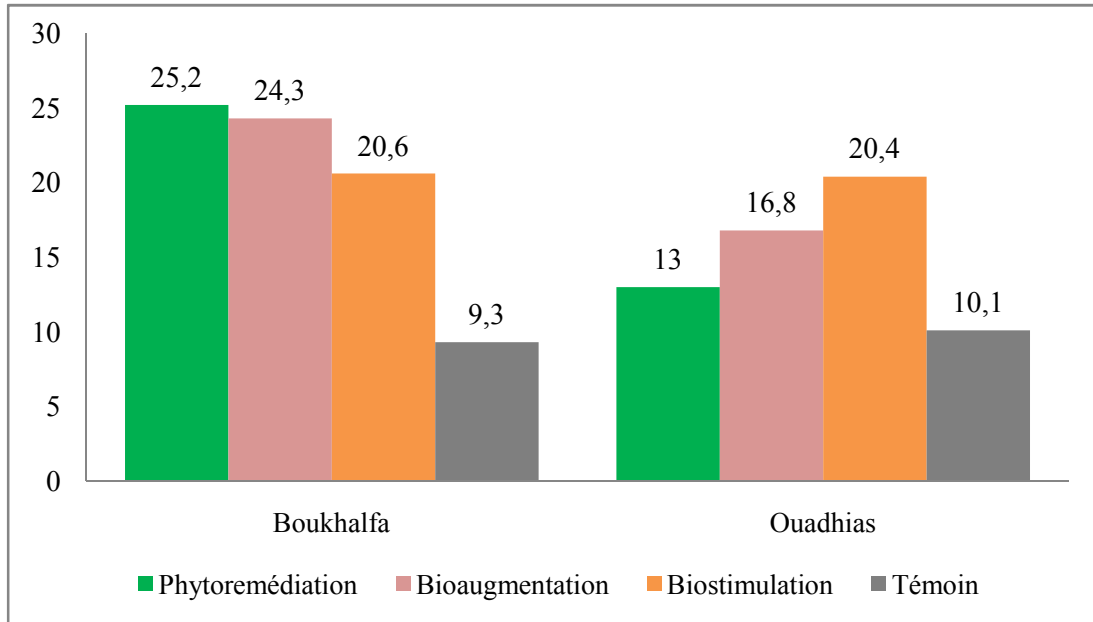


Fig. 19 : Activité biologique globale des deux stations

D'après les résultats du test respirométrique, on remarque que les sols traités par phytoremédiation et par bioaugmentation ont eu une activité plus intense dans le sol de la station de Boukhalfa avec 25,2 et 24,3mg/100g de sol respectivement contre 13 et 16,8mg/100g du sol de la station des Ouadhias.

Le test de Mann-Whitney (annexe XI) révèle qu'il y a une différence significative entre l'activité biologique des deux stations ($p\text{-value} = 8,516.10^{-5}$). Ce qui signifie que les traitements ont agi différemment dans les sols des deux stations.

III.1.3.2. Activité de la catalase

L'activité de la catalase du sol estimée dans les deux stations est illustrée dans la figure 20. Les valeurs de l'activité de cette enzyme sont plus élevées après traitement des sols par phytoremédiation et bioaugmentation au niveau des Ouadhias avec respectivement 1,11 et 1,04ml contre 0,97 et 0,85ml de H_2O_2 catalysé dans la station de Boukhalfa.

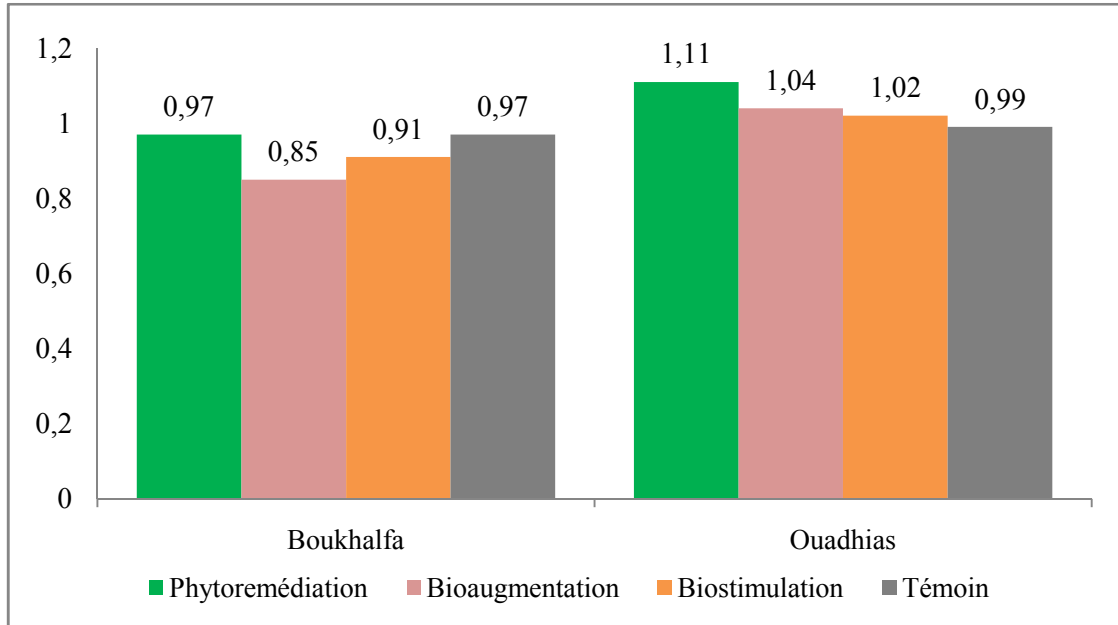


Fig. 20 : Activité de la catalase dans les sols des deux stations

Le test de Mann-Whitney (annexe XI) révèle qu'il y a une différence significative entre l'activité de la catalase des deux stations ($p\text{-value} = 0,003012$). Ce qui signifie que la station a un effet sur la quantité d'enzymes actives dans le sol.

III.1.3.3. Analyse quantitative des hydrocarbures totaux

Les quantités des hydrocarbures évaluées dans les deux stations sont présentées dans la figure 21.

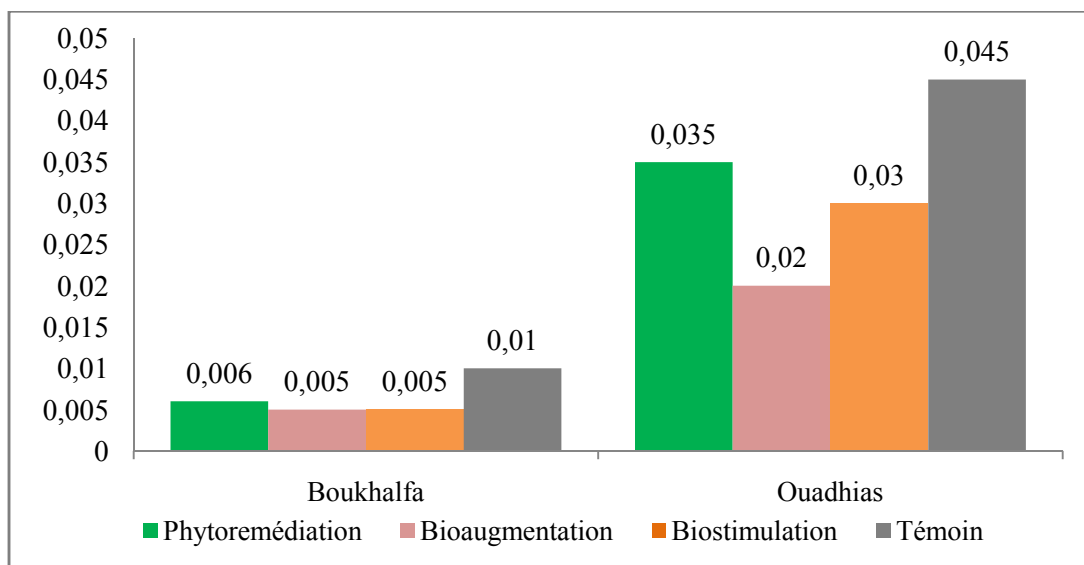


Fig. 21 : Quantités des hydrocarbures extraites des sols des deux stations

En comparant les quantités d'hydrocarbures extraites des sols avant traitements, on remarque que la concentration est plus élevée dans la station des Ouadhias que dans celle de Boukhalfa avec une valeur de 0,045g contre 0,01g soit une différence de 77,78%.

Dans les deux stations, la quantité des hydrocarbures a considérablement diminuée après le traitement du sol par bioaugmentation (Ouadhias 55,56% ; Boukhalfa 50%). Celui-ci a été plus efficace que la biostimulation (Boukhalfa 50% ; Ouadhias 33,33%) et la phytoremédiation (Boukhalfa 40% ; Ouadhias 22,22%).

Compte tenu de ces résultats, l'efficacité des traitements est différente d'une station à une autre. La bioaugmentation a été la plus performante dans la station des Ouadhias contrairement à celle de Boukhalfa où les traitements ont eu à peu près la même efficacité.

L'analyse de ces données par le test de Mann-Whitney (annexe XI) nous a permis de déduire qu'il y avait une différence significative entre la quantité des hydrocarbures dans les sols des deux stations (p-value = 0,0009138). Ce qui signifie que la station a eu un effet sur la quantité des hydrocarbures.

III.1.3.4. Test de germination

La figure 22 présente le taux de germination du maïs dans les stations Boukhalfa et Ouadhias.

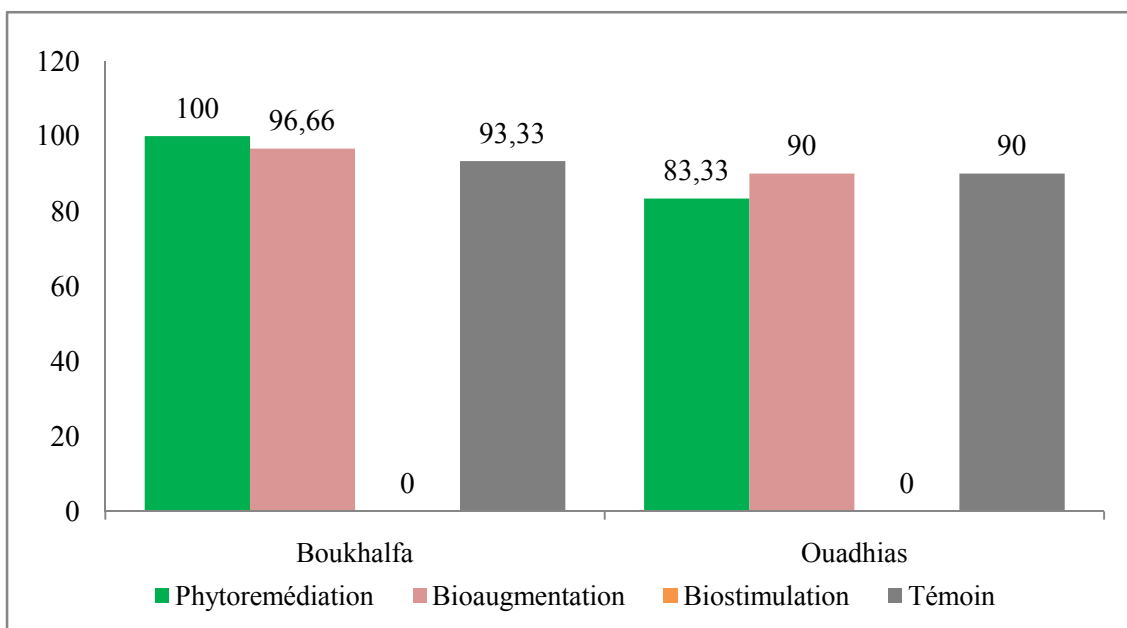


Fig. 22 : Taux de germination du maïs dans les deux stations

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une différence du taux de germination observée dans les deux stations. Un taux de germination plus élevé a été observé dans les sols de Boukhalfa par rapport à ceux des Ouadhias. Pour la phytoremédiation, nous avons eu un taux de 100% contre 83,33%, suivi de la bioaugmentation avec 96,66% contre 90% et enfin pour le témoin 93,33% contre 90%. Concernant la biostimulation les résultats sont similaires dans les deux stations avec 0%. On constate une amélioration du taux de germination dans la station de Boukhalfa, contrairement à celle des Ouadhias où la germination a été équivalente après traitement par bioaugmentation et inférieure après phytoremédiation.

Le test de Mann-Whitney (annexe XI) révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre le taux de germination du maïs dans les sols des deux stations ($p\text{-value} = 0,3796$). Ce qui signifie que les moyennes sont égales et que la station n'a donc, pas d'effet sur la germination.

III.1.3.5. Elongation racinaire

Les mesures de l'élongation racinaire effectuées sur les graines de maïs des deux stations sont représentées dans la figure 23.

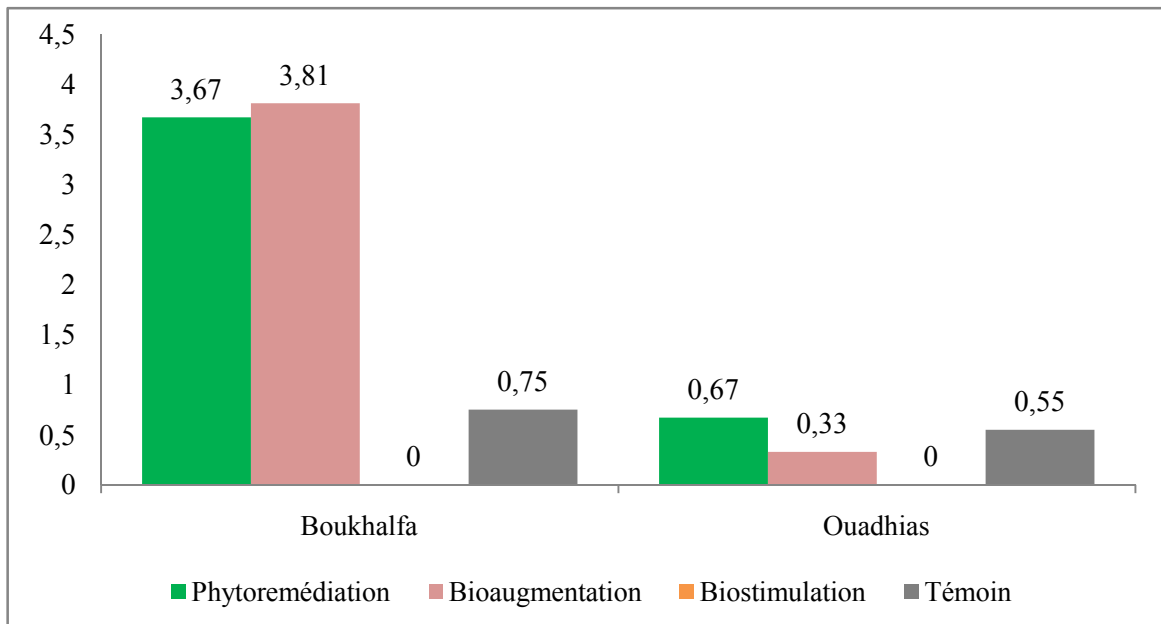


Fig. 23 : Elongation racinaire du maïs dans les deux stations

Selon ces résultats, la croissance racinaire est plus importante dans le sol de la station de Boukhalfa que dans celui de la station des Ouadhias, avec une différence de 3,48cm pour les

sols traités par bioaugmentation, 3cm pour les sols de la phytoremédiation et 0,2 cm pour les sols témoins. Il n'y a pas de différences entre les deux stations dans les sols traités par la biostimulation.

Le test de Mann-Whitney (annexe XI) révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre l'élongation racinaire du maïs des deux stations (p -value = 0,1809). Ce qui signifie que la station n'a pas d'effet sur la croissance racinaire des plantules de maïs.

III.1.3.6. Essai de toxicité sur les vers de terre

La figure 24 montre la perte de poids observée chez les vers après 14 jours. Ces valeurs sont obtenues après une différence réalisée entre le poids des vers avant et après l'essai.

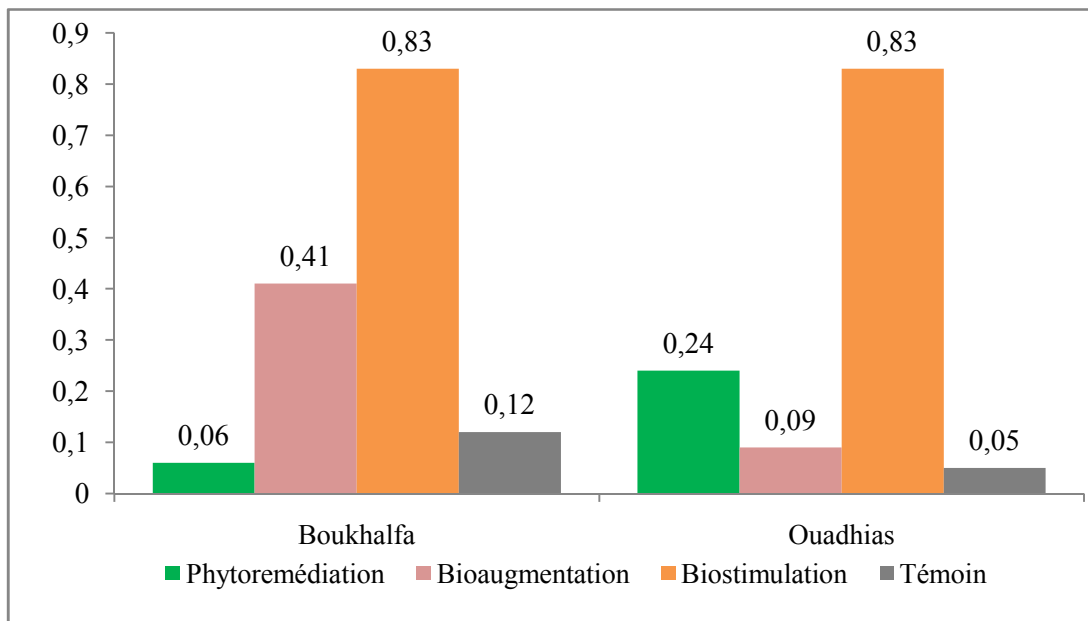


Fig. 24 : Différence de poids chez *Eisenia* après le test d'écotoxicité

La perte de poids des vers a été importante et équivalente dans les sols traités par biostimulation pour les deux stations (0,83g), ceci est dû à la mort immédiate de tous les vers. Tous les autres traitements et les sols témoins ont montré une perte de poids différente d'une station à l'autre. Ainsi, dans le sol de la station de Boukhalfa, c'est celui traité par phytoremédiation qui a été le moins toxique pour les vers de terre avec une faible perte de poids. Dans la station des Ouadhias, c'est dans le sol traité par bioaugmentation qu'on a enregistré la baisse de poids la plus faible.

Au niveau des deux stations, on n'a pas observé de grandes pertes de poids dans les sols témoins, ceci est dû à l'activité des microorganismes indigènes qui dégradent les hydrocarbures (atténuation naturelle).

L'analyse des données par le test de Mann-Whitney (annexe XI) montre qu'il n'y a pas de différence significative entre la perte de poids dans les sols des deux stations (p -value = 0,6201). On conclue que la station n'a pas d'effet sur la baisse du poids des vers de terre.

III.2. Discussion

Dans chaque station, l'activité biologique mesurée dans les sols traités est supérieure aux sols témoins. Cette amélioration de la qualité biologique du sol peut être due à la dégradation des hydrocarbures après l'application des différentes techniques biologiques. Des résultats similaires ont été observés après traitement du sol par Bioaugmentation (Madani et Halil, 2017), par Biostimulation (Yennek et Zaouche, 2017). Nos résultats diffèrent de ceux observés par Kabri et Taibi (2016), qui n'ont pas eu une amélioration de l'activité biologique globale après la phytoremédiation.

Au niveau de la station de Boukhalfa, l'activité de la catalase montre que les microorganismes indigènes utilisent les polluants comme substrats (atténuation naturelle). En effet, l'activité mesurée dans le sol témoin (non traité) est supérieure à celle des sols traités (excepté celui traité par phytoremédiation où elle a été égale). Selon plusieurs auteurs, lorsque les polluants sont utilisés comme substrats, ils peuvent avoir une action positive sur l'activité microbienne en favorisant une production d'enzymes plus élevée (Wyszkowska et *al.*, 2006; Dindar et *al.*, 2015).

Par ailleurs, l'activité de la catalase mesurée dans la station des Ouadhias, est supérieure dans les sols traités que le témoin, ce qui veut dire que le traitement du sol a conduit à une augmentation de l'activité enzymatique. Gianfreda et *al.* (2005) affirment que la contamination par les hydrocarbures affaiblit ou inhibe totalement les activités enzymatiques du sol et que l'étendue de cet effet croît significativement avec l'augmentation du niveau de la pollution.

En comparant l'activité de la catalase enregistrée dans les deux stations, nous remarquons que celle des Ouadhias est plus élevée que celle de Boukhalfa. Ces résultats peuvent s'expliquer par la quantité de MO contenus dans ces sols, celle des Ouadhias est supérieure à celle de

Boukhalfa (6,78 > 3,60). En effet l'activité enzymatique est étroitement liée au taux de MO du sol (Knight et Dick, 2004 ; Dick, 1997 *in* Hamitouche et Henadci, 2018).

L'activité biologique du sol de Boukhalfa est supérieure à celle des Ouadhias, ces résultats sont contraires à ceux observés pour l'activité de la catalase. Il existe de nombreuses preuves qu'une fraction importante de l'activité enzymatique mesurée dans le sol provient d'enzymes extracellulaires (Knight et Dick, 2004).

Dans les deux stations, le sol traité par la biostimulation n'a pas permis la germination des graines de maïs. Ces résultats sont causés par un excès de nutriments (azote) engendré lors de la mise en place du traitement. Cette hypothèse est confirmée par les résultats obtenus après l'analyse physico-chimique des sols (Boukhalfa, très riche et Ouadhias, riche en azote). L'excès d'azote a entraîné l'appauvrissement du sol en carbone et en MO, ce qui favorise une pollution aux nitrates (Marseault et *al.*, 2020).

Dans les sols témoins ont été enregistrées une bonne germination et une bonne élévation racinaire du maïs malgré la présence des carburants. Ceci peut être dû à l'absence de phytotoxicité des contaminants qui ne contiendraient pas les fractions les plus toxiques ou qui ne seraient pas présents à des concentrations très élevées (cas de la station-service de Boukhalfa). C'est dans ce contexte que plusieurs auteurs ont montré que l'ampleur des effets des hydrocarbures différerait selon leurs concentrations (Chaîneau et *al.*, 1997).

Par ailleurs, nous remarquons que les graines de maïs ont eu une meilleure germination dans les sols issus de la station de Boukhalfa que dans ceux des Ouadhias. Ceci peut s'expliquer par la CEC qui est plus élevée pour Boukhalfa que pour Ouadhias, car plus elle est élevée plus elle peut retenir des cations dans le sol, ce qui améliore la structure du sol et permet d'alimenter correctement les végétaux (Masson, 2012).

Concernant l'essai de toxicité sur les vers, il n'y a pas eu de différence significative entre les pertes de poids dans les deux stations. Cependant, la mort des vers observée dans le sol traité par la biostimulation, nous confirme l'hypothèse d'un excès de fertilisants dans le sol.

Conclusion

Dans ce mémoire, nous avons procédé à une étude de décontamination biologique de sols issus de deux stations-service pollués par les carburants (essence et gasoil). Les techniques qui ont été appliquées sont la phytoremédiation, la bioaugmentation et la biostimulation, dont l'efficacité a été évaluée par l'application des bio-essais.

Au terme de notre travail, nous avons obtenu une amélioration de la qualité biologique du sol, qui s'est traduite par une augmentation de l'activité biologique globale dans les sols traités au niveau de chaque station. Ce résultat concorde avec l'analyse des hydrocarbures résiduels, qui nous a permis d'observer une diminution de la quantité des hydrocarbures après traitement des sols.

L'activité de la catalase n'a pas fourni une grande indication sur l'efficacité des traitements appliqués sur le sol des deux stations, puisque l'effet de ces derniers n'a pas été significatif sur l'activité de cette enzyme.

Les résultats enregistrés après le test de germination, l'élongation racinaire et le test de toxicité sur les vers de terre ont été concluants pour les sols traités et témoins. Ceci s'explique par l'efficacité des traitements appliqués (phytoremédiation et bioaugmentation) et l'atténuation naturelle qui a eu lieu dans les sols non traités (témoins). Concernant la biostimulation, la salinité du sol causée par l'excès de fertilisants n'a pas permis d'avoir des résultats concluants.

A partir de cette étude, nous pouvons confirmer que les techniques biologiques sont efficaces pour les traitements d'un sol pollué par les hydrocarbures. Cependant, la bioaugmentation et la phytoremédiation ont donné des résultats satisfaisants pour tous les tests effectués.

Pour finir, nous proposons quelques perspectives pour les études futures, à savoir :

- Réaliser des analyses physico-chimiques du sol avant d'appliquer les techniques de décontamination pour une meilleure estimation des mesures à effectuer (produits) ;
- Faire une quantification et une identification de la biomasse microbienne contenue dans le sol dans le but d'approfondir l'interprétation des résultats en apportant plus de précisions ;
- Faire une étude de décontamination avec les trois techniques tout en réalisant une analyse physico-chimique des sols avant et après traitements, ce qui permettra de mieux connaître l'évolution et l'influence de chacune d'entre elles sur ces paramètres du sol ;

- Utiliser d'autres taxons et d'autres points finaux de mesure, tels que les activités physiologiques et les tests de toxicité aiguë pour compléter les tests réalisés.

Références bibliographiques

A

Aberkane M., Ayache R., 2018. *Essai de bioremédiation de sols pollués au gasoil par des bactéries hydrocarbonoclastes*. Mémoire de master. Université des frères Mentouri Constantine, 49p.

Adams R.H., Guzman Osorio F.J., 2008. *Evaluation of land farming and chemico-biological stabilization for treatment of heavily contaminated sediments in a tropical environment*. *International Journal of Environmental Science and Technology*. Vol : 5, N°2, pp. 169-178.

Alik S., Belkacem L., 2015. *Essai de remédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par la technique de bioaugmentation*. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 26p.

Alvarez V.M., Marques J.M., Korenblum E., Seldin L., 2011. *Comparative bioremediation of crude oil-amended tropical soil microcosms by natural attenuation, bioaugmentation, or bioenrichment*. *Appl. Environ. SoilSci*. Vol : 2011, pp. 1-10.

Anne P., 1945. *Analyse des matières organiques dans le sol*. Services scientifiques centraux. Bondy Laboratoire de Chimie des sols et Pédologie Appliquées, pp. 70-74.

B

Bocard C., 2006. *Marées noires et sols pollués par les hydrocarbures. Enjeux environnementaux et traitement des pollutions*. Edition TECNIP. Paris, 295p.

Bourkache R., Boussenou N., 2015. *Essai de phytoremédiation in situ et ex situ d'un sol pollué par les hydrocarbures. Cas des stations-service*. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 39p.

Business France, 2021. *Les hydrocarbures en Algérie*. Bureau business France d'Alger, 5p.

C

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

Carnicer P., 2007. *Pollution ponctuelle des sols : cas des stations-services dans la région de Bruxelles-capitale*. Mémoire de fin d'étude. Université libre de Bruxelles, 154p.

Charrois J.W., McGill W.B., Froese K.L., 2001. *Acute ecotoxicity of creosote-contaminated soils to Eiseniafetida: a survival-based approach*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol : 20, N°11, pp. 2594-2603.

Chibane G., 2013. *Caractérisation des hydrocarbures extraits de sols dépollués par la technique de phytoremédiation*. Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 73p.

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

Chaîneau C.H., Morel J.L., Oudot J., 1997. *Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons*. *Journal of Environmental Quality*. Vol : 26, pp. 1478-1483.

Colombano S., Saada A., Geurin V., Bataillard P., Bellenfant G., Beranger S., Hube D., Blanc C., Zornig C., Girardeau I., 2010. *Quelles techniques pour quels traitements- Analyse coûts-bénéfices*. Rapport final BRGM-RP-58609-FR, 399p.

Colombano S., Saada A., Victoire E., Guerin V., Zornig C., Amalric L., Blessing M., Widory D., Hube D., Blanc C., Honrado J-C., Gassiat B., 2014. *Nature des produits pétroliers et origine du vieillissement : tentative de l'identification de la source via la prise en compte des impacts et l'analyse de l'âge approximatif des déversements*. Rapport final BRGM/RP-64174-FR, 163p.

Costes J.-M., Druelle V., 1997. *Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement : la réhabilitation des anciens sites industriels*. *Revue de l'institut français du pétrole*. Vol : 52, N°4, pp. 425-440.

Coulon F., Dellile D., 2003. *Effects of biostimulation on Growth of Indigenous Bacteria in Sub-Antarctic Soil Contaminated with Oil hydrocarbons*. *Oil & Gas Science and Technology- Rev. IFP*. Vol : 58, N°4, pp. 469-479.

D

Dali M., Iddir O., 2018. *Etude physico-chimique et microbiologique d'un sol pollué par les hydrocarbures avant et après traitement par phytoremédiation*. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 35p.

Dindar E., Topaç Şağban F.O., Başkaya H.S., 2015. *Variations of soil enzyme activities in petroleum-hydrocarbon contaminated soil*. International Biodeterioration & Biodegradation. Vol : 105, pp. 268-275.

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

E

Essoh C.Y., 2013. *Etude épidémiologique de souches de Pseudomonas aeruginosa responsables d'infections et de leurs bactériophages pour une approche thérapeutique*. Thèse de doctorat. Université Paris-sud, 239p.

F

FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture), 1955. *Les légumineuses en agriculture*, 421p.

Fattal P., 2008. *Pollutions des côtes par les hydrocarbures*. Presse universitaire de Rennes, 395p.

G

Gianfreda L., Rao M. A., Piotrowska A., Palumbo G., Colombo C., 2005. *Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution*. Science of the Total Environment. Vol : 34, pp. 265-279.

Girard M.C., Walter C., Rémy J.C., Berthelin J., Morel J.L., 2005. *Sols et environnement*. Edition DUNOD. Paris, 816p.

Guermouche M'rassi A., 2014. *Caractérisation moléculaire des bactéries impliquées dans la biodégradation des hydrocarbures*. Thèse de doctorat. Université d'Oran, 153p.

H

Hadjou O., Rabhi S., 2015. *Essai de bioremédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par la bioaugmentation et la biostimulation*. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 29p.

Hamitouche G., Henadci R., 2018. *Comparaison de l'efficacité des techniques de dépollution (phytoremédiation, biostimulation et bioaugmentation) d'un sol contaminé aux hydrocarbures*. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 42p.

I

International Organization for Standardization (ISO 11268-1)., 2012. *Soil quality-Effects of pollutant on earthworms-Part I: Determination of acute toxicity to Eiseniafetida/Eiseniaandrei*, 7p.

K

Kabri R., Taibi H., 2016. *Comparaison de l'efficacité de quelques techniques biologiques de décontamination d'un sol pollué aux hydrocarbures*. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 26p.

Kamath R., Rentz J.A., Schnoor J.L., Alvarez P.J.J., 2004. *Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils: principles and applications*. Department of Civil and Environmental Engineering, Seaman Center, University of Iowa, Iowa City, Iowa, U.S.A. -52242.

Kessi L., 2015. *Contribution à la phytoremédiation de sol des bourbiers de Hassi Massaoud*. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 49p.

Knight T. R., Dick R.P., 2004. *Differentiating microbial and stabilized & beta-glucosidase activity relative to soil quality*. Soil Biology and Biochemistry. Vol : 36, N°12, pp. 2089-2096.

Koller E., 2004. *Traitement des pollutions industrielles : eau, air, déchets, sols, boues*. Edition DUNOD. Paris, 570p.

L

Leena Grace Dr., Selvaraj K., 2010. *Technologies and Biological Processes in Phytoremediation*. International Journal of Life Sciences and Technology. Vol : 3, N°1, pp. 7-15.

Lemière 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'Evaluation Détaillée des Risques pour les ressources en eau*. Rapport BRGM/RP-50662-FR, 103p.

Len J., Gawel Ph.D., 2001. *A guid for remediation of salt/hydrocarbon impacted soil*. North Dakota Industrial Commission. Department of Mineral Resources Bismarck, ND 58505-0840, 50p.

M

Madani C., Halil D., 2017. *Optimisation mathématique des paramètres de la bioaugmentation d'un sol pollué aux carburants*. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 33p.

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

Marseault L., Delamare C., Schaad M., Philippot M., Lecoq M., Métails C., 2020. *Fonctionnement du sol : rapport carbone/azote*. Centre d'Initiative pour Valoriser l'Agriculture et le Milieu rural (CIVAM), 50p.

Masson J-C., 2012. *Comprendre la formation et la fertilité des sols*. Institut Français de l'Education (IFE), 5p.

N

Nait Abdelkader S., Djenad M., 2015. *Essai de remédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par biostimulation. Cas des stations-services*. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 28p.

Nguemté P.M., Wafo G.D., Djocgoue P.F., Kengne Noumsi I.M., Wanko Ngnien A., 2017. *Phytoremédiation de sols pollués par les hydrocarbures-Evaluation des potentialités de six*

espèces végétales tropicales. Revue des sciences de l'eau/ Journal of Water Science. Vol : 30, N°1, pp. 13-19.

Nasseri S., Rezaei Kalantary R., Nourieh N., Naddafi K., Mahvi A.H., Baradaran N., 2010. *Influence of bioaugmentation in biodegradation of PAHs-contaminated soil in bio-slurry phase reactor. Iran.J. Environ. Sci. Eng. Vol : 7, N° 3, pp. 199-208.*

O

Oulaf L., 2015. *Etude comparative de l'efficacité de trois techniques de remédiation (phytoremédiation, biostimulation, bioaugmentation) sur des sols pollués par les carburants. Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 90 p.*

Ould Rabah N., 2012. *Essai de phytoremediation des sols contaminés par les hydrocarbures. Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 105p.*

R

Ramade F., 2007. *Introduction à l'écotoxicologie. Fondements et applications. Edition TEC & DOC. Paris, 618p.*

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

Rojo F., 2009. *Degradation of alkanes by bacteria. Environmental Microbiology. Vol : 11, N°10, pp. 2477-2490.*

S

Saad D., Dendani T., 2017. *Les effets des hydrocarbures sur quelques propriétés physico-chimiques et biologiques du sol. Cas de la station-service de Fréha. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 44p.*

Saada A., Nowak C., Coquereau N., 2005. *Etats de connaissance sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures. Rapport intermédiaire : Résultat de la phase I. Rapport BRGM/RP-53739-FR, 107p.*

Salmi S., Salmi F., 2017. *Contribution à l'étude de l'efficacité de deux variétés de chlorophytum comosum et de vicia faba dans la décontamination de sol artificiellement*

pollué et l'influence de la pollution aux hydrocarbures sur leurs caractères phénolique. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 43p.

Sasek V., Bhatt M., Cajthaml T., Malachova K., Lednicka D., 2003. *Compost-mediated removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil.* *Archives of Environmental Contamination and toxicology.* Vol : 44, pp. 336-342.

Sayles G.D., Acheson C.M, Kupferle M.J, Shan Y., Zhou Q., Meier J.R., Chang L., Brenner R.C., 1999. *Land treatment of PAH-contaminated soil: Performance measure by chemical and toxicity assays.* *Environmental Science and Technology.* Vol : 33, pp. 4310-4317.

Semrany S., 2014. *Bioaugmentation fongique des boues activées : Elimination de la carbamazépine persistante dans l'eau.* Thèse de doctorat. Université de Rennes 1, 248p.

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

T

Thavasi R., Jayalakshmi S., Banat I.M., 2011. *Application of biosurfactant produced from peanut oil cake by Lactobacillus delbrueckii in biodegradation of crude oil.* *Bioresource technology.* Vol : 102, pp. 3366-3372.

Triffault-Bouchet G., Gruyer N., Groleau P.E., Ouellet A., Dupont F., 2015. *Hydrocarbures pétroliers : caractéristiques, devenir et criminalistique environnementale. Etudes GENV22 et GENV23. Evaluation environnementale stratégique globale sur les hydrocarbures.* Ministère du développement durable, de l'environnement et de la lutte contre les changements climatiques, centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 41p.

V

Vidali M., 2001. *Bioremediation. An overview.* *Pure Appl. Chem.* Vol : 73, N°7, pp. 1163-1172.

W

Wyszkowska J., Kucharski M., Kucharski J., 2006. *Application of the Activity of Soil Enzymes in the Evaluation of Soil Contamination by Diesel Oil*. Pol. J. Environ. Stud. Vol : 15, N°3, pp. 501-506.

Y

Yennek M., Zaouche M., 2017. *Optimisation mathématique des paramètres de la biostimulation d'un sol pollué aux carburants*. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 30p.

Annexe I : Normes d'interprétations**I.1. Normes d'interprétation de l'azote (Calvet et Villemin., 1986)**

Interprétations	Très pauvre	Pauvre	Moyen	Riche	Très riche
Valeurs de l'azote (%)	<0,05	0,05-0,1	0,1-0,15	0,15-0,25	>0,25

I.2. Normes d'interprétation pour le rapport C/N (Gagnard et *al.*, 1988)

Interprétations	Faible	Normale	Fort
Valeurs du C/N	<8	8-12	>12

I.3. Normes d'interprétation du pH du sol selon le Mémento de l'agronome (1983)

Valeurs du pH	Interprétations
<4,5	Extrêmement acide
4,5-5	Très fortement acide
5,1-5,5	Fortement acide
5,6-6,5	Faiblement acide
6,6-7,3	Neutre
7,4-7,8	Légèrement alcalin
7,9-8,4	Moyennement alcalin
8,5-9	Fortement alcalin
>9	Très fortement alcalin

I.4. Normes d'interprétation de la CE (Mathieu et *al.*, 2003)

Valeurs de la CE	Interprétations
0-0,6	Non salé
0,6-1	Légèrement salé
1-2	Salé
2-4	Très salé
>4	Extrêmement salé

I.5. Normes d'interprétation du calcaire total (FAO)

Valeurs du calcaire (%)	Interprétations
<5	Non calcaire
5-12,5	Faiblement calcaire
12,5-25	Modérément calcaire
25-37,5	Assez fortement calcaire
37,5-50	Fortement calcaire
>50	Très fortement calcaire

I.6. Normes d'interprétation de la matière organique (Soltner, 1981)

Valeur de la MO	Interprétations
< 1	Extrêmement faible
1-1,5	Très faible
1,5-2,5	Faible
2,5-3,5	Moyen
3,5-4,5	Moyennement élevé
4,5-5	Elevé
> 5	Très élevé

Annexe II : Résultats de l'analyse quantitative des hydrocarbures**II.1. Station de Boukhalfa**

Sol	Poids des hydrocarbures (g)	Moyenne (g)
Phytoremédiation	0,01	0,01
	0,01	
	0,01	
Bioaugmentation	0,01	0,005
	0	
	0,005	
Biostimulation	0	0,005
	0,01	
	0,005	

Témoin	0,02	0,01
	0	
	0,01	

II.2. Station des Ouadhias

Sol	Poids des hydrocarbures (g)	Moyenne (g)
Phytoremédiation	0,04	0,035
	0,03	
	0,035	
Bioaugmentation	0,04	0,02
	0	
	0,02	
Biostimulation	0,01	0,03
	0,05	
	0,03	
Témoin	0,05	0,045
	0,04	
	0,045	

Annexe III : Résultats de l'activité biologique globale

III.1. Station de Boukhalfa

Sols	V _{H2SO4} (ml)	Quantité de C (mg)	Moyenne des répétitions (mg)
Phytoremédiation	8,1	24,3	25,2
	8,7	26,1	
	8,4	25,2	
Bioaugmentation	8,6	25,8	24,3
	8,1	24,3	
	7,6	22,8	
Biostimulation	7,3	21,9	20,6
	6,7	20,1	
	6,6	19,8	
Témoin	4,1	12,3	9,3
	3,2	9,6	
	2	6	

III.2. Station des Ouadhias

Sols	V _{H2SO4} (ml)	Quantité de C (mg)	Moyenne des répétitions (mg)
Phytoremédiation	4,4	13,2	13
	4,4	13,2	
	4,2	12,6	
Bioaugmentation	5,2	15,6	16,8
	6	18	
	5,6	16,8	
Biostimulation	6,4	19,2	20,4
	6,5	19,5	
	7,5	22,5	
Témoin	3,2	9,6	10,1
	3,7	11,1	
	3,2	9,6	

Annexe IV : Résultats de l'analyse de la catalase

$$V_{\text{initial}} = 1,25 \text{ ml}$$

$$V_{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ catalysé}} = V_{\text{initial}} - V_{\text{n'ayant pas réagit}}$$

$$C_{\text{H}_2\text{O}_2} = 0,088 \text{ mol/L}$$

$$C_{\text{KMnO}_4} = 0,02 \text{ mol/L}$$

IV.1. Station de Boukhalfa

Sols	V _{KMnO4} (ml)	n _{KMnO4} (mol)	n _{H2O2} (mol)	V _{n'ayant pas réagit} (ml)	V _{H2O2 Catalysé} (ml)
Phytoremédiation	0,6	$1,2 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3,41 \cdot 10^{-1}$	0,909
	0,6	$1,2 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3,41 \cdot 10^{-1}$	0,909
	0,3	$6 \cdot 10^{-6}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$	$1,70 \cdot 10^{-1}$	1,08
Bioaugmentation	1	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$5,68 \cdot 10^{-1}$	0,682
	0,4	$8 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2,27 \cdot 10^{-1}$	1,023
	0,7	$1,4 \cdot 10^{-5}$	$3,5 \cdot 10^{-5}$	$3,98 \cdot 10^{-1}$	0,852
Biostimulation	0,6	$1,2 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3,41 \cdot 10^{-1}$	0,909
	0,6	$1,2 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3,41 \cdot 10^{-1}$	0,909
	0,6	$1,2 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3,41 \cdot 10^{-1}$	0,909
Témoin	0,6	$1,2 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3,41 \cdot 10^{-1}$	0,909
	0,4	$8 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2,27 \cdot 10^{-1}$	1,023
	0,5	10^{-5}	$2,5 \cdot 10^{-5}$	$2,84 \cdot 10^{-1}$	0,966

Moyenne des répétitions

Sol	V _{Catalysé}
PH	0,966
BA	0,852
BS	0,909
T	0,966

IV.2. Station des Ouadhias

Sols	V_{KMnO4} (ml)	n_{KMnO4} (mol)	n_{H2O2} (mol)	$V_{n'ayant\ pas\ réagit}$ (ml)	$V_{catalysé}$ (ml)
Phytoremédiation	0,2	$4 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$1,14 \cdot 10^{-1}$	1,136
	0,25	$5 \cdot 10^{-6}$	$1,25 \cdot 10^{-5}$	$1,42 \cdot 10^{-1}$	1,108
	0,3	$6 \cdot 10^{-6}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$	$1,70 \cdot 10^{-1}$	1,08
Bioaugmentation	0,4	$8 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2,27 \cdot 10^{-1}$	1,023
	0,3	$6 \cdot 10^{-6}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$	$1,70 \cdot 10^{-1}$	1,08
	0,4	$8 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2,27 \cdot 10^{-1}$	1,023
Biostimulation	0,4	$8 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2,27 \cdot 10^{-1}$	1,023
	0,4	$8 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2,27 \cdot 10^{-1}$	1,023
	0,4	$8 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2,27 \cdot 10^{-1}$	1,023
Témoin	0,6	$1,2 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3,41 \cdot 10^{-1}$	0,909
	0,45	$9 \cdot 10^{-6}$	$2,25 \cdot 10^{-5}$	$2,56 \cdot 10^{-1}$	0,994
	0,3	$6 \cdot 10^{-6}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$	$1,70 \cdot 10^{-1}$	1,08

Moyenne des répétitions

Sol	$V_{Catalysé}$
PH	1,108
BA	1,042
BS	1,023
T	0,994

Annexe V : Résultats du taux de germination

V. Station de Boukhalfa

Traitements	Opération	Taux de germination (%)
Phytoremédiation	$(30/30) \cdot 100$	100
Bioaugmentation	$(29/30) \cdot 100$	96,66
Biostimulation	$(0/30) \cdot 100$	0
Témoin	$(28/30) \cdot 100$	93,33

V. Station des Ouadhias

Traitements	Opération	Taux de germination (%)
Phytoremédiation	$(25/30) \cdot 100$	83,33
Bioaugmentation	$(27/30) \cdot 100$	90
Biostimulation	0	0
Témoin	$(27/30) \cdot 100$	90

Annexe VI : Résultats de l'élongation racinaire**VI. Station de Boukhalfa**

Traitements	2 ^{ème} mesure	1 ^{ère} mesure	Elongation racinaire (cm)
Phytoremédiation	6,75	3,08	3,67
Bioaugmentation	5,66	1,85	3,81
Biostimulation	0	0	0
Témoin	8,73	7,98	0,75

VI. Station des Ouadhias

Traitements	2 ^{ème} mesure	1 ^{ère} mesure	Elongation racinaire (cm)
Phytoremédiation	2,54	1,87	0,67
Bioaugmentation	1,81	1,48	0,33
Biostimulation	0	0	0
Témoin	13,32	12,77	0,55

Annexe VII : Test de Kruskal-Wallis

- Activité biologique globale de Boukhalfa

```
> kruskal.test(AB~sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  AB by sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 9.5848, df = 3, p-value = 0.02245
```

- Taux de germination de Boukhalfa

```
> kruskal.test(G~sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  G by sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 8.2425, df = 3, p-value = 0.04126
```

- Taux de germination des Ouadhias

```
> kruskal.test(G~sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  G by sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 6.9667, df = 3, p-value = 0.07297
```

- Elongation racinaire de Boukhalfa

```
> kruskal.test(ER~Sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  ER by Sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 9.5957, df = 3, p-value = 0.02233
```

- Test d'écotoxicité sur les vers de terre de Boukhalfa

```
> kruskal.test(VT~sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  VT by sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 5.7544, df = 3, p-value = 0.1242
```

- Test d'écotoxicité sur les vers de terre des Ouadhias

```
> kruskal.test(VT~sol)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  VT by sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 6.8114, df = 3, p-value = 0.07816
```

Annexe VIII : Test post-hoc de Kruskal-Wallis

- Activité biologique globale de Boukhalfa

```
$groups
      AB groups
ph 10.166667    a
ba  8.833333    a
bs  5.000000    b
t   2.000000    c
```

- Taux de germination de Boukhalfa

```
$groups
      G groups
ph 9.500000    a
ba 7.666667    a
t  6.833333    a
bs 2.000000    b
```

- Elongation racinaire de Boukhalfa

```
$groups
      ER groups
ba  10      a
ph   9      a
t    5      b
bs   2      c
```

Annexe IX : Test de l'anova

- Activité biologique globale des Ouadhias

```
> reg.aov1=lm(AB~sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: AB
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
sol     3 20.1292  6.7097  42.828 2.836e-05 ***
Residuals 8  1.2533  0.1567
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

- Activité de la catalase de Boukhalfa

```
> reg.aov1=lm(CAT~sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: CAT
      Df  Sum Sq  Mean Sq F value Pr(>F)
sol     3 0.027933 0.0093111  0.896 0.4841
Residuals 8 0.083133 0.0103917
```

- Activité de la catalase des Ouadhias

```
> reg.aov1=lm(CAT~sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: CAT
      Df  Sum Sq  Mean Sq F value Pr(>F)
sol     3 0.022425 0.0074750  3.2036 0.08348 .
Residuals 8 0.018667 0.0023333
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

- Analyse quantitative des hydrocarbures de Boukhalfa

```
> reg.aov1=lm(HC~sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: HC
      Df  Sum Sq  Mean Sq F value Pr(>F)
sol     3 0.000051 1.70e-05  0.4096 0.7505
Residuals 8 0.000332 4.15e-05
> |
```

- Analyse quantitative des hydrocarbures des Ouadhias

```
> reg.aov1=lm(hc~sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: hc
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
sol    3 0.000975 0.0003250  1.5294  0.28
Residuals 8 0.001700 0.0002125
```

- Elongation racinaire des Ouadhias

```
> reg.aov1=lm(ER~sol)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: ER
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
sol    3 0.78649 0.26216  1.9316 0.2031
Residuals 8 1.08580 0.13573
```

Annexe X : Test de Newman-Keuls

- Activité biologique globale des Ouadhias

```
$groups
      AB groups
ph 10.166667    a
ba  8.833333    a
bs  5.000000    b
t   2.000000    c
```

Annexe XI : Test de Mann-Whitney

- Activité biologique globale de la comparaison

```
> wilcox.test(AB~station)

      Wilcoxon rank sum test with continuity correction

data: AB by station
W = 140.5, p-value = 8.516e-05
alternative hypothesis: true location shift is not equal to 0
```

- Activité de la catalase de la comparaison

```
> wilcox.test(CAT~station)

      Wilcoxon rank sum test with continuity correction

data: CAT by station
W = 21.5, p-value = 0.003012
alternative hypothesis: true location shift is not equal to 0
```

- Analyse quantitative des hydrocarbures de la comparaison

```
> wilcox.test(hc~station)

      Wilcoxon rank sum test with continuity correction

data:  hc by station
W = 15, p-value = 0.0009138
alternative hypothesis: true location shift is not equal to 0
```

- Taux de germination de la comparaison

```
> wilcox.test(G~station)

      Wilcoxon rank sum test with continuity correction

data:  G by station
W = 87, p-value = 0.3796
alternative hypothesis: true location shift is not equal to 0
```

- L'élongation racinaire de la comparaison

```
> wilcox.test(ER~station)

      Wilcoxon rank sum test with continuity correction

data:  ER by station
W = 95.5, p-value = 0.1809
alternative hypothesis: true location shift is not equal to 0
```

- Test d'écotoxicité sur les vers de terre de la comparaison

```
> wilcox.test(VT~station)

      Wilcoxon rank sum test with continuity correction

data:  VT by station
W = 81, p-value = 0.6201
alternative hypothesis: true location shift is not equal to 0
```

Résumé

Ce travail consiste à évaluer, par le biais de bio-essais, l'efficacité des techniques de bioremédiation (phytoremédiation, bioaugmentation, biostimulation), utilisées afin de décontaminer des sols pollués aux hydrocarbures de deux stations-service (Boukhalfa et Ouadhias). Nous avons utilisé des sols témoins, qui ont connu une atténuation naturelle et des sols décontaminés par des techniques biologiques afin de comparer l'efficacité des traitements.

Selon les résultats de cette étude, l'efficacité des traitements diffère d'une station à une autre, ce qui est dû à la différence des caractéristiques et éventuellement au niveau de pollution des deux sols.

Mots clés : phytoremédiation, bioaugmentation, biostimulation, bio-essais, pollution, carburants, stations-service.

Abstract

This work consists in evaluating, through bioassays, the efficiency of bioremediation techniques (phytoremediation, bioaugmentation, biostimulation), used in order to decontaminate soils polluted with hydrocarbons from two service stations (Boukhalfa and Ouadhias). We used control soils, which had undergone natural attenuation, and decontaminated soils in order to compare the effectiveness of the treatments.

According to the results of this study, the effectiveness of the treatments differed from one station to another, which is due to the differences in characteristics and possibly at the pollution level of the two soils.

Keywords: phytoremediation, bioaugmentation, biostimulation, bioassay, pollution, fuels, gas-stations.