

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

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master
en Ecologie et Environnement
Spécialité : Biodiversité et Environnement

Thème

**Etude physico-chimique et microbiologique d'un
sol pollué par les hydrocarbures avant et après
traitement par phytoremédiation**

Présenté par : M^{elle} Dali Manel

M^{elle} Iddir Ouerdia

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme Sahmoune F.	MAA	UMMTO
Promotrice : Mme Sadoudi - Ali Ahmed D.	Professeur	UMMTO
Co-promotrice : Mme Chibane G.	Doctorante Es. Sciences	UMMTO
Examinatrice : M ^{elle} Ali Ahmed S.	MAA	UMMTO

Date de soutenance : 09 juillet 2018

Remerciements

Nous remercions tout d'abord, le bon Dieu qui nous a donné le courage et la patience pour terminer ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à notre promotrice M^{me} SADOUDI - ALI AHMED D. Professeur à l'UMMTO de nous avoir proposé cette thématique d'actualité et d'avoir accepté de nous encadrer, de diriger ce travail, pour son aide très précieuse et sa patience.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre Co- promotrice : M^{me} CHIBANE G. pour sa contribution concrète, son aide et ses conseils afin de terminer ce travail.

Nos remerciements pour M^{elle} ALI AHMED S. Pour ses précieux conseils qui ont contribué au bon déroulement de notre travail au sein du laboratoire.

Nous remercions M^{me} MANSOUR BENAMAR M. et M^{me} BACHI, M^{me} ALI AHMED C. pour leurs aides.

Nos vifs remerciements vont aussi aux membres de jury M^{me} SAHMOUNE F. et M^{elle} ALI AHMED S. pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs remarques et propositions, qui ne seront que constructives et enrichissantes pour nos travaux dans l'avenir.

Nos sincères remerciements vont également à toutes les équipes des laboratoires de pédologie et microbiologie du département des sciences de la Nature et de la Vie pour leurs précieuses aides et collaborations.

Nous remercions tous les enseignants qui ont contribué à notre formation universitaire.

Enfin, un grand merci à tous nos amis et à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents sources de tendresse et de force

Je vous remercie d'être toujours à mes côtés, de me soutenir, de m'aimer et de me protéger.

A mon cher frère et ma chère sœur

A ma binôme et sa famille.

A mes ami (es)

A toute la promotion de Biodiversité et Environnement 2017/2018.

Manel

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents sources de tendresse et de force

Je vous remercie d'être toujours à mes côtés, de me soutenir, de m'aimer et me protéger.

A mes chers frères et sœurs

A ma binôme et sa famille.

A mes ami (es)

A toute la promotion de Biodiversité et Environnement 2017/2018.

Ouerdia

Liste des abréviations

CE : Conductivité électrique.

F : la fève.

L : la luzerne.

H : le haricot.

T : témoin.

TG : Taux de germination.

GN : gélose nutritive.

SNCNCu : Sol non contaminé non cultivé.

SCNCu : Sol contaminé non cultivé.

ITMA : Institut Technologique des Moyens Agricole.

PDA : Potato Dextrose Agar.

Liste des figures

Figure	Titre	page
Figure 1	Proportion des principaux composants du sol.	3
Figure 2	Différentes techniques de phytoremédiation.	10
Figure 3	Schéma explicatif des protocoles adoptés pour l'isolement des bactéries et des champignons à partir des sols contaminés et non contaminés.	19
Figure 4	Test de germination des trois espèces végétales.	21
Figure 5	Taux de germination des trois espèces légumineuse.	21
Figure 6	Taux de levée des trois espèces dans les deux sols (contaminé et non contaminé).	22
Figure 7	pH des sols non cultivés et cultivés avec les trois espèces végétales .	23
Figure 8	Taux de la matière organique des trois espèces dans le sol contaminé et non contaminé et les sols témoins	24
Figure 9	Conductivité électrique des différents sols contaminés et non contaminés, non cultivés et cultivés avec les trois espèces.	25
Figure 10	Humidité moyenne des différents sols contaminés et non contaminés non cultivés et cultivés avec les trois espèces.	26
Figure 11	Nombre de la microflore bactéries dans les deux sols (contaminés et non contaminés) cultivées avec les trois espèces végétales.	27
Figure 12	Nombre de champignons / 10 g sol sec dans les deux sols (contaminé et non contaminé) non cultivés et cultivés avec les trois espèces végétales	28
Figure 13	Observation microscopique d' <i>Alternaria alternata</i> (GrX10) (Originale, 2018).	29
Figure 14	Observation microscopique de <i>Cladosporium sp</i> (originale , 2018).	29
Figure 15	Observation microscopique d' <i>Aspergillus niger</i> (A et B) (Originale, 2018).	29
Figure 16	Observation microscopique <i>Mycelia sterillia</i> (GrX40) (Originale, 2018).	30
Figure 17	<i>Penicillium sp</i> (Originale, 2018).	30
Figure 18	<i>Fusarium</i> (Grx10) (Originale, 2018).	30

Table des matières

Introduction générale	1
Chapitre I : synthèse bibliographique	
I. Sol	3
I.1. Définition du sol	3
I.2. Constituants du sol	3
I.3. Propriétés du sol	4
II. Pollution du sol par les hydrocarbures	5
II.1. Hydrocarbures aliphatiques	5
II.2. Hydrocarbures aromatiques	6
II.3. Hydrocarbures alicycliques et cycliques	6
II.4. Origines des hydrocarbures	6
II.5. Devenir des hydrocarbures	6
II.6. Impacts des hydrocarbures sur l'environnement	7
II.7. Effet phytotoxique des hydrocarbures sur les plantes	8
III. Méthodes de remédiation des sols contaminés par les hydrocarbures	8
III.1. Traitement thermique	8
III.2. Traitement physique	8
III.3. Traitement chimique	8
III.4. Traitement biologique	9
III.5. Facteurs physiques et chimiques affectant la biodégradation	12

Chapitre II : Matériels et Méthodes

I. Matériel	13
I.1. Sol	13
I.2. Pétrole	13
I.3. Espèces végétales	13
I.3.1. Luzerne (<i>Medicago sativa</i> L.)	13
I.3.2. Haricot (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	14
I.3.3. Fève (<i>Vicia faba</i> L.)	15
II. Méthodes	16
II.1. Préparation du sol	16

II .2. Test de germination.....	16
II.3. Mise en place de l'essai.....	16
II.4. Analyse physico-chimique du sol	16
II.4.1. Potentiel d'hydrogène (pH)	17
II.4.2. Conductivité électrique(CE)	17
II.4.3. Humidité	17
II.4.4. Matière organique (MO).....	17
II.5. Analyse microbiologique du sol	17
II.5.1. Préparation de la solution mère	18
II.5.2. Préparation des suspensions dilutions	18
II.5.3. Microflore bactérienne	18
II.5.4. Champignons.....	18
II.6. Analyses statistiques	20

Chapitre III :resultats et discussion

I. Résultats.....	21
I.1. Test de germination.....	21
I.2. Effet des hydrocarbures sur le taux de levée des trois espèces végétales.....	22
I.3. Effet des hydrocarbures sur le sol :.....	22
I.3.1. pH du sol cultivé par les trois espèces	23
I.3.2 : Matière organique des sols cultivés par les trois espèces :.....	24
I.3.3. Conductivité électrique :.....	25
I.3.4. Humidité :	26
I.4. Microflore du sol :	27
I.4.1. Biomasse bactérienne du sol :.....	27
I.4.2. Champignons	28
II. Discussion.....	31
II.1. Effet des hydrocarbures sur le taux de levée des trois espèces végétales	31
II.2. Effet des hydrocarbures sur le sol	31
II.2.1. pH du sol cultivé par les trois espèces	31
II.2.2 : Matière organique	32
II.2.3. Conductivité électrique.....	32

II.2.4. Humidité	32
II.3. Microflore du sol.....	32
II.3.1. Biomasse bactérienne du sol.....	32
II.3.2. Champignons	33
Conclusion et perspectives.....	34
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

De nos jours, notre environnement est devenu toxique ; l'air que nous respirons, les aliments que nous ingérons, l'eau que nous buvons ... indispensables à la vie, sont devenus vecteurs de substances chimiques dangereuses.

Le pétrole, première source d'énergie, a connu une progression ininterrompue de son extraction pendant plus d'un siècle. Cette croissance exponentielle de l'utilisation des produits pétroliers, a multiplié les risques de contaminations du milieu naturel. En effet, toute rupture de charge au cours du transport, de la production ou de l'utilisation des hydrocarbures est génératrice de contaminations qui peuvent influencer l'équilibre écologique et parfois même, entraîner la destruction d'un écosystème entier (Rouiidi, 2014).

En Algérie, le développement économique s'est accompagné par une consommation croissante des ressources naturelles générant des déchets et résidus qui ont provoqué une accélération de la dégradation de l'environnement. Les niveaux de dégradation atteints sont particulièrement préoccupants : pollution de l'air, du sol, de l'eau et de l'environnement d'une manière générale (Bellabas et *al.*, 2016)

La pollution des sols est le résultat des activités minières et d'industries lourdes, comme l'industrie pétrolière ou l'industrie chimique. Les polluants sont majoritairement des composés organiques (hydrocarbures) et des métaux lourds (Benchouk, 2017).

La dépollution des sols contaminés se fait par de nombreuses méthodes en fonction de la toxicité du polluant et du risque qu'il représente. De nouvelles technologies sont en développement. Les techniques de traitement thermiques et physico-chimiques sont les plus répandues mais elles ont leurs limites du fait de leurs coûts ou de leurs impacts secondaires sur l'environnement, La voie biologique (bioremédiation) est en plein essor et suscite de très nombreux travaux de par le monde. Elle fait appel, entre autres, aux micro-organismes pour réduire la toxicité des matières organiques à risques ou pour les transformer en matières non toxiques (Guitoun, 2013).

La phytoremédiation, technologie verte, peut s'avérer une solution prometteuse au problème posé par la décontamination des sols pollués par des hydrocarbures. Elle consiste à évaluer la capacité des plantes à éliminer et/ou atténuer la contamination des sols par les hydrocarbures (Shirdam et *al.*, 2008).

C'est une technologie en voie de développement, elle suscite l'intérêt de nombreux laboratoires de recherche à travers le monde. Dans ce contexte, nous avons choisi des espèces de

légumineuses, pour mener un traitement de sols pollués avec les hydrocarbures au laboratoire, ce choix est fait en se référant aux travaux déjà entrepris dans le cas de sols contaminés par les essences et le pétrole (Henner, 2000).

Les objectifs de la présente étude consistent, d'une part, en une étude de quelques propriétés physicochimiques de deux sols (contaminé par le pétrole à 5 % et non contaminé) cultivés par des légumineuses qui sont la luzerne, le haricot et la fève.

D'autre part, nous avons réalisé une étude biologique des mêmes sols consistant en un dénombrement des bactéries et un dénombrement et identification des champignons à travers une comparaison entre les deux sols.

Le présent travail est scindé en trois chapitres :

Le premier chapitre présente le cadre général de l'étude notamment des rappels bibliographiques sur le sol, la pollution par les hydrocarbures et les différentes techniques de décontamination et aussi le rôle des microorganismes.

Le deuxième chapitre est une présentation du matériel végétal et la méthodologie adaptée pour la réalisation des analyses physico-chimiques et microbiologiques.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus, leur interprétation et les discussions éventuelles.

Nous terminons notre travail par une conclusion générale et quelques perspectives de recherches.

Premier chapitre : synthèse bibliographique

Introduction

La pollution des sols résulte des conséquences cumulées de diverses activités humaines, tant industrielles qu'agricoles et urbaines. Cette contamination a des conséquences environnementales, sanitaires et socio-économiques préoccupantes (Noumeur, 2008).

1. Définition du sol

Un sol est une pellicule d'altération recouvrant une roche. Il prend naissance à partir de la roche mère puis il évolue sous l'action des facteurs du milieu (Jouanin, 2004). Les proportions des principaux composants du sol sont montrés dans la figure suivante :

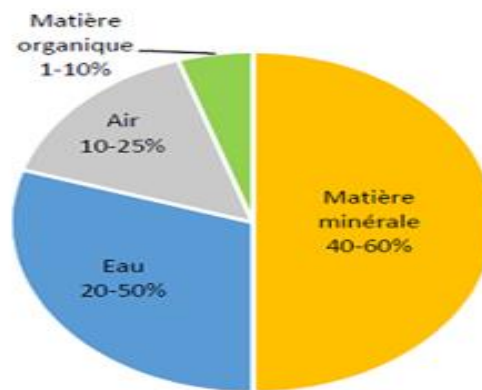


Figure 1 : Proportion des principaux composants du sol (Mazziotti, 2017)

I.2. Constituants du sol

I.2.1. Fraction ou phase solide

Elle comprend des constituants minéraux qui sont classés selon la grosseur ou la composition minérale et des constituants organiques qui sont des débris végétaux et animaux (Soltner, 2011).

I.2.2. Fraction ou phase liquide

Elle est composée d'eau dans laquelle sont dissoutes des substances solubles provenant de l'altération des roches et de la décomposition des matières organiques (Soltner, 2011).

I.2.3. Fraction ou phase gazeuse

Elle est appelée aussi l'atmosphère du sol est composée de gaz que l'on trouve dans l'air (oxygène, azote et gaz carbonique) (Soltner, 2011).

I.3. Propriétés du sol

I.3.1. Propriétés physiques

I.3.1.1. Structure du sol

C'est le mode d'assemblage des particules. Elle détermine la répartition, dans l'espace, de la matière solide et des vides (Duchaufour, 2001). Divers types de structures sont distingués à la vue et au toucher : structure élémentaire (les terres sableuses), structure fragmentaire (structure des meilleures terres de culture) et structure compacte ou massive (ou aucun vide n'existe entre les particules qui forment un bloc) (Koller, 2009).

I.3.1.2. Texture du sol

La texture du sol est sa teneur centésimale en sable grossier et fin, en limon, en argile, en humus et en calcaire (Soltner, 2011). Elle précise la proportion des divers éléments physiques du sol (Koller, 2009).

I.3.1.3. Porosité du sol

C'est le volume des vides. Ces derniers sont occupés par l'air ou par l'eau, exprimés en pourcentage du volume total. La porosité conditionne les capacités d'écoulement et de rétention d'un substrat (Duchaufour, 2001).

I.3.1.4. Perméabilité du sol

D'après Jouannin (2004), la perméabilité du sol désigne l'aptitude d'un milieu à se laisser traverser par l'eau, sous l'action d'un gradient hydraulique.

I.3.2. Propriétés chimiques

I.3.2.1. Potentiel d'hydrogène (pH)

L'acidité du sol est définie par la concentration des ions H. Le pH exprime l'acidité actuelle qui est le cologarithme de la concentration en ions H de la solution du sol et permet de définir l'état du complexe absorbant et le taux de saturation (Duchaufour, 2001).

I.3.2.2. Conductivité électrique

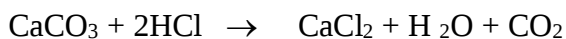
Selon Clement (2009), la conductivité électrique d'une solution du sol est un indice des teneurs en sels solubles dans ce sol. Elle exprime la concentration des solutés ionisables présents dans l'échantillon c'est-à-dire le degré de salinité.

I.3.2.3. Matière organique

La matière organique est une source importante d'éléments nutritifs pour les plantes. Sa teneur totale dans le sol renseigne sur sa potentialité fertilisante. Le sol devient instable en son absence car elle joue un rôle important dans la formation des agrégats (Clement, 2009).

I.3.2.4. Calcaire total

Selon Es-skalli (2015), la détermination du carbonate de chaux total permet une classification des sols en différentes catégories : sols non calcaire, calcaires, franchement calcaires. L'évaluation du pourcentage de CaCO_3 , par la mesure volumétrique du CO_2 dégagé à une température et une pression donnée, permet le calcul du pourcentage de CaCO_3 selon la réaction suivante :



I.3.3. Propriétés biologiques

D'après Chantigny (2005), la population microbienne du sol constitue le maillon final de la chaîne trophique du sol par laquelle transite le carbone et les éléments nutritifs des matières organiques avant de redevenir disponible pour les plantes. Elle remplit donc une fonction essentielle et obligatoire dans le recyclage des matières organiques retournées au sol. C'est une réserve à court terme pour les plantes parce qu'elle contient une certaine quantité d'éléments nutritifs dans sa biomasse. Les microorganismes du sol sont largement hétérotrophes et pour se multiplier, ils dépendent d'une source de matière organique

II. Pollution du sol par les hydrocarbures

Dans les zones d'exploitation pétrolière, le sol fait souvent l'objet de contamination par les hydrocarbures (Boufiane, 2015). Les hydrocarbures sont des substances constituées de carbone et d'hydrogène (Martinelli, 1999). Ils possèdent une formule brute de type C_nH_m , où n et m sont 2 entiers naturels (Pimsee, 2014). Ces derniers se subdivisent en catégories : les hydrocarbures aliphatiques, les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les hydrocarbures alicycliques (Rocher, 2004).

II.1. Hydrocarbures aliphatiques

La famille des hydrocarbures aliphatiques est constituée de composés saturés et non saturés. Les hydrocarbures saturés, appelés alcanes, sont caractérisés par la présence de liaisons simples entre les atomes de carbone. Ils forment deux grands groupes : les hydrocarbures à chaîne ouverte et les cyclanes dont la chaîne est fermée. Les hydrocarbures non saturés sont de

deux types, les alcènes et les alcynes, caractérisés respectivement par la présence d'une double et d'une triple liaison entre deux atomes de carbone (Militon, 2007).

II.2. Hydrocarbures aromatiques

Les hydrocarbures aromatiques sont des polluants organiques persistants, aux origines multiples et qui ont un caractère ubiquiste dans l'environnement. Ils ont une faible solubilité (Denys, 2014). Plusieurs familles d'hydrocarbures aromatiques sont présentes dans les pétroles bruts. Ces composés sont dominés par des composés mono-, di- et tri-aromatiques. En général, les hydrocarbures aromatiques sont moins abondants que les alcanes et ne représentent que 10 à 30 % des hydrocarbures totaux d'un brut pétrolier (Soltani, 2004).

II.3. Hydrocarbures alicycliques et cycliques

Les hydrocarbures alicycliques peuvent également être saturés ou posséder une ou plusieurs doubles liaisons. Cependant, la structure cyclique est incompatible avec les triples liaisons du fait de leur géométrie linéaire, à moins que la molécule ne contienne un minimum de 8 carbones (cyclines). Il existe aussi des hydrocarbures bi- voir tricycliques (Pimsee, 2014).

II.4. Origines des hydrocarbures

La pollution par les hydrocarbures est due à des rejets, volontaires ou non, des produits pétroliers. Les hydrocarbures sont considérés comme étant des polluants à la fois organiques et chimiques (Koller, 2009).

Les hydrocarbures fossiles proviennent de la décomposition d'une grande quantité de matière organique coincée entre deux couches sédimentaires et les hydrocarbures actuels sont produits par des bactéries décomposant la matière organique (Djerbaoui, 2011). Les rejets industriels sont les sources d'hydrocarbures pétroliers pyrolytiques (Soltani, 2004).

II.5. Devenir des hydrocarbures dans le sol

Le sol est un milieu complexe et dynamique où les trois phases solide, liquide et gazeuse interagissent. Ce sont les échanges entre ces trois phases qui gouvernent la répartition des polluants. Les processus mis en jeu peuvent être classés en différentes catégories selon qu'ils contribuent à la rétention des polluants dans la phase solide du sol, à leur transfert vers d'autres milieux ou à leur transformation (Pagotto, 1999).

• Volatilisation

Elle débute après un déversement d'hydrocarbures, et correspond au transfert des composés volatils plus légers vers l'atmosphère (Neff et *al.*, 2000). Cette évaporation dépend

des conditions météorologiques. En général, plus la vitesse du vent et la température ambiante sont élevées, plus l'évaporation est rapide (Asia, 2012 in Rouidi, 2014).

- **Emulsification**

L'émulsification est un processus d'incorporation de gouttelettes d'eau dans les hydrocarbures pétroliers. Ceci augmente le volume du produit déversé et modifie certaines propriétés physiques des hydrocarbures (la densité et la viscosité) (Gruyer et *al.*, 2015).

- **Transformation**

Il peut s'agir d'un phénomène biologique lorsqu'elle fait intervenir la matière vivante ou non biologique (hydrolyse, oxydation et réaction photochimique) (Ali Ahmed, 2011).

- **Biodégradation**

Les hydrocarbures peuvent être biodégradés par les microorganismes dans la colonne d'eau ou les sédiments. Ils sont utilisés par ces derniers comme source de carbone pour produire de l'énergie. La biodégradation microbienne complète des hydrocarbures produits du dioxyde de carbone, de l'eau, de petits alcanes et des hydrocarbures cycliques (Gruyer et *al.*, 2015).

- **Sorption :**

Le processus de sorption sur un matériau poreux de type sol comprend l'adsorption (processus par lesquelles un soluté est lié à la surface d'un solide), la chimisorption (soluté incorporé sur le sol par réactions chimique), l'absorption (particules poreuse permettent au soluté, sa diffusion intra particulaire) (Jouanin, 2004).

- **Solubilisation**

Un hydrocarbure est d'autant plus soluble que sa masse moléculaire est faible et que sa polarité est élevée. Il est important de noter que ces hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement, ils sont difficiles à éliminer et sont adsorbés par la faune et la flore du sol (Soltani, 2004).

II.6. Impacts des hydrocarbures sur l'environnement

Les risques causés par ces polluants organiques dans les milieux souterrains concernent, en premier, la qualité des eaux souterraines qui deviennent impropres pour certaines utilisations (Soltani, 2004).

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

Au niveau de la phase gazeuse du sol, les risques sont réels avec la présence de substances volatiles : émanations toxiques, incendies et explosions avec des produits inflammables et explosifs en atmosphère confinée (Scriben, 1999 in Bekenniche, 2014).

II.7. Effet phytotoxique des hydrocarbures

Les hydrocarbures semblent pouvoir, dans certains cas, exercer une action de type hormonale sur la croissance et le développement des végétaux supérieurs et, dans d'autres cas, inhiber ces phénomènes (Henner, 2000).

La photo induction des hydrocarbures conduit dans tous les cas à la production de nombreuses molécules polaires très réactives, plus toxiques que les molécules mères.

Les effets de phytotoxicité constatés au niveau des feuilles et des racines sont divers : chloroses, inhibition de l'élongation et de la croissance racinaire, inhibition de la photosynthèse et la production d'assimilat (Henner, 2000).

III. Méthodes de remédiation des sols contaminés par les hydrocarbures

La décontamination des sites pollués est, aujourd'hui, devenue une nécessité croissante. Les zones contaminées sont vouées à être requalifiées. De plus, la diversité des polluants et donc leurs propriétés physico-chimiques accentuent la difficulté de cette décontamination, Plusieurs voies d'élimination des hydrocarbures polluants le sol sont étudiées (Gaudu, 2014).

III.1. Traitement thermique

Ce traitement s'avère une option intéressante pour les matériaux d'excavation et les résidus fortement contaminés par des contaminants organiques. Les procédés thermiques sont souvent coûteux, mais ils sont très efficaces, tant pour l'extraction que l'élimination (Koller, 2009).

III.2. Traitement physique

Il consiste à utiliser des fluides (eau ou gaz) ou de la chaleur pour traiter la pollution. Les fluides, présents dans le sol ou injectés, sont utilisés comme vecteur pour transporter la pollution vers des points d'extraction afin de la traiter par des procédées chimiques ou biologiques, ou pour l'immobiliser. La chaleur, quand à elle, est utilisée afin de volatiliser le polluant, le détruire, l'isoler ou le rendre inerte (Koller, 2009).

III.3. Traitement chimique

Les techniques chimiques ont pour but de détruire les polluants ou les transformer sous une forme moins nocive pour l'environnement (Amiri, 2013). Elles consistent à utiliser, selon

les propriétés chimiques des polluants, des réactions appropriées afin de les inerte (sorption), les détruire (oxydation) ou les séparer du milieu pollué (surfactant) (Mazzioti ,2017).

III.4. Traitement biologique

Le traitement biologique vise la dégradation de la matière organique essentiellement par l'activité des bactéries déjà présentes dans le sol ou encore par des bactéries spécialement cultivées et l'optimisation de leurs conditions de prolifération (Koller, 2009).

III.4.1. Phytoremédiation

La phytoremédiation est une biotechnique végétale basée sur la capacité des plantes à extraire ou à bloquer les polluants. Elle offre une réelle alternative, aussi bien écologique que paysagère et financière face aux techniques de dépollution traditionnelles pour aider à la réhabilitation des terrains contaminés (Origo, 2012).

III.4.1.1. Exemples de plantes utilisées en phytoremediation.

Plusieurs espèces végétales sont de bonnes candidates dans les protocoles de phytoremediation. Parmi ces espèces, citons le tournesol, la moutarde, la luzerne, le ricin et le maïs. En plus de leurs efficacités à accumuler les polluants, ces plantes sont très tolérantes aux contaminants et elles ont la capacité de s'établir dans des sols pollués, comme elles produisent des quantités appréciables de biomasse (Beauchamp, 2017).

III.4.1.2. Techniques de phytoremédiation

D'après Hénault-Ethier (2016), la phytoremédiation recouvre différents procédés (figure 02) ;

- Phytoextraction
- Phytodégradation et la rhizodégradation
- Phytostabilisation
- Phytovolatilisation
- Rhizofiltration

Les différentes méthodes de phytoremédiation sont schématisées dans la figure suivante :

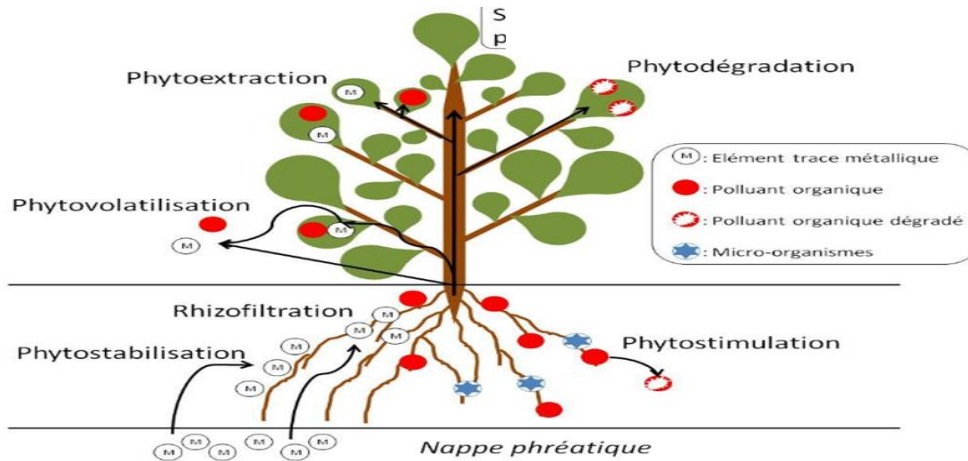


Figure 2 : Différentes techniques de phytoremédiation (Sourzat, 2016)

III.4.2. Bioremédiation

La bioremédiation est une option qui permet de détruire ou de rendre moins toxique le polluant, en utilisant des activités biologiques naturelles. Ce procédé consiste à activer la capacité naturelle que possèdent de nombreux organismes indigènes ou exogènes (bactérie, micro algue et champignon), à dégrader les polluants en composés inertes (Abdelly, 2007).

III.4.2.1. Techniques de bioremediation

- Land-farming (épandage)

Il est utilisé pour le traitement des déchets pétroliers et il se base sur l'activité dépolluante de la microflore. Cette technique est efficace mais lente. Elle présente l'avantage d'être relativement peu onéreuse (Roger, 2000).

- Compostage

C'est un procédé qui met en œuvre les microorganismes aérobies et thermophiles et qui est traditionnellement utilisé pour dégrader des déchets végétaux issus de l'agriculture et les transformer en un produit moins volumineux, riche en éléments nutritifs et qui peuvent être réutilisés comme engrais (Roger, 2000).

- Bio augmentation

C'est une méthode de traitement *in situ*, qui consiste à ensemercer les souches spécifiques de microorganismes exogènes dans le sol afin d'optimiser l'activité microbienne indigène responsable de la biodégradation des polluants organiques (Colombano et *al.*, 2010).

- Bio stimulation

Cette technique consiste à stimuler l'activité des populations indigènes par apport de nutriments et par ajustement des conditions du milieu (potentiel oxydo réduction et d'humidité) (Abdelly., 2007). Elle consiste à améliorer les processus de biodégradation des polluants organiques (Martial, 2017)

- Bioventing

C'est une technologie prometteuse qui consiste à stimuler la biodégradation in –situ de polluants dans les sols en fournissant, en place, à la microflore, l'oxygène nécessaire. Ce dernier est apporté par l'injection d'air dans la zone contaminée (Perchet, 2008).

III.4.2.2. Dégradation microbiologique des polluants hydrocarbonés

La dégradation microbienne est un mécanisme naturel et primordial pour dépolluer les sites contaminés par les hydrocarbures pétroliers. Les bactéries et les champignons sont des médiateurs primaires dans la dégradation des hydrocarbures, ils sont capables de métaboliser une grande gamme d'hydrocarbures et les transformer partiellement en métabolites ou en les minéralisant complètement. L'exposition préalable aux hydrocarbures entraîne l'adaptation (par induction d'enzyme spécifique ou par les changements génétiques) de la communauté microbienne à les utiliser comme source de carbone et d'énergie (Benchouk, 2017).

III.4.2.2.1. Bactéries

Les bactéries c'est le groupe de microorganismes les plus abondants et les plus actifs du sol. C'est le groupe le plus étudié. Leurs aptitudes à dégrader les hydrocarbures a été démontrée, depuis plus de 50 ans. Cette dégradation se fait sur plusieurs étapes afin d'obtenir des composées simples servant comme source de carbone (Verdin, 2004). Les bactéries proviennent des milieux variés et peuvent vivre dans des conditions extrêmes : des températures en dessous de 0°C ou très élevées, dans des milieux inondés ou en plein désert, en milieu aérobie ou anaérobie. Les bactéries aérobies connues dans la biodégradation des hydrocarbures, appartiennent aux germes *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Sphingomonas* et *Mycobacterium* (Abdelly, 2007).

III.4.2.2.2. Champignons

Ils sont aussi capables de dégrader les hydrocarbures (Gaudu, 2004). En général, ils forment une biomasse aussi importante que celle des bactéries. Leurs activités métaboliques

sont multiples et fondamentales à l'équilibre écologique du sol, par leurs interactions, avec le système racinaire des plantes, leur aptitude de colonisation et de dégradation des débris organiques et des composés de structure complexe. De nombreux travaux indiquent la prédominance des genres *Mucor*, *Trichoderma* et *Aspergillus* (Boussebouda, 2005 in Mezergat, 2014). Les avantages principaux des champignons par rapport aux bactéries sont leurs capacités de se propager dans des sols grâce à leurs mycelium et à produire des enzymes extracellulaires (Verdin, 2004).

III.4.2.2.3. Actinomycètes

Les actinomycètes jouent un rôle écologique important. Ils possèdent la capacité de dégrader des molécules complexes non dégradées par les champignons ou les autres bactéries, contribuant ainsi à la fertilisation des sols. Les enzymes sont, après les antibiotiques, les produits les plus importants sécrétés par les actinomycètes (Sjoeholm, 2001 in Hocinat, 2018).

III.5. Facteurs physiques et chimiques affectant la biodégradation

- Structure et texture du sol

Il est important de connaître la structure et la nature du sol à traiter parce que les bioprocédés s'appliquent à une grande variété du sol (Djerbaoui, 2011).

- Composition chimique des hydrocarbures

La biodégradabilité du pétrole brut est très fortement dépendante de leurs compositions. A une température déterminée, un pétrole léger est plus susceptible d'être biodégradé qu'un pétrole lourd (Soltani, 2004).

- Facteurs microbiologiques

A cause de la grande solubilité des hydrocarbures à faibles poids moléculaires, ils sont considérés comme étant toxiques pour les microorganismes. Leur concentration est très élevée dans les phases aqueuses (Colin, 2000).

- Facteurs environnementaux

- Effet du pH

Les valeurs extrêmes du pH ont des effets négatifs sur la dégradation des hydrocarbures par les microorganismes. Les bactéries hétérotrophes et les champignons ont une croissance idéale lorsque le pH est proche de la neutralité (Colwell, 1990 in Djerbaoui, 2011).

- Effet de la salinité

Selon Soltani (2004), les fortes salinités affectent la dégradation des hydrocarbures. Cette biodégradation est maximale pour une concentration en sels de 0.4 M et elle diminue pour des valeurs supérieures et inférieures à celle-ci.

Deuxième chapitre : matériels et méthodes

Matériels et Méthodes

Dans le but d'évaluer les effets écotoxicologiques des hydrocarbures sur la microflore du sol avant et après traitement par phytoremédiation, la mise en œuvre des essais a été réalisée au niveau des laboratoires de la faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'UMMTO.

I. Matériels

I.1. Sol

Pour la réalisation des expériences, des échantillons de sols sont prélevés de l'institut technologique des moyens agricoles (ITMAS) de Boukhafa (wilaya de Tizi-Ouzou). Ce sol a une texture limono-argileuse (Amiri, 2013).

I.2. Pétrole

Le pétrole utilisé pour la contamination artificielle du sol de l'ITMA est un pétrole brut qui provient d'une unité d'exploitation de Hassi Messaoud ; c'est un substrat qui consiste en un mélange de composés aliphatiques et aromatiques.

I.3. Espèces végétales

En vue d'évaluer la biodégradation des hydrocarbures, trois espèces de légumineuses ont été utilisées : la luzerne, le haricot et la fève.

Selon Brogard (2016), les légumineuses sont les plantes qui colonisent le mieux les sols imbibés par le pétrole ; c'est pour cela qu'on a opté pour le choix de ces plantes. Les légumineuses ou Fabacées se caractérisent par leur capacité naturelle à fixer l'azote de l'atmosphère. Cette aptitude leur est conférée par les bactéries du genre *Rhizobium* vivant en symbiose au niveau de leurs racines dans des organes appelés nodosités (Dequiedt, 2016).

I.3.1. Luzerne (*Medicago sativa* L.)

La luzerne (*Medicago sativa* L.) est une légumineuse fourragère connue pour sa forte teneur en protéines (Melis et al., 2017).

Cette plante est une dicotylédone. Sa taille varie en moyenne de 30 à 70 cm.

Elle possède de petites fleurs violettes ou jaunes, groupées en grappes ; ses tiges souterraines ramifiées lui permettent d'être une plante vivace. Le système racinaire présente une racine pivotante pouvant descendre à plus de deux mètres (Colas, 2012).

- Classification botanique

D'après Quezel et Santa (1962) in (Benlakhadar, 2015) classification botanique de la luzerne est comme suit :

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones.

Ordre : Rosale

Famille : Fabacées

Genre : *Medicago*

Espèce : *Medicago sativa* L.

- Caractéristiques de l'espèce

Selon Melis (2017), la luzerne apprécie les sols profonds et bien drainés et germe à des températures situées entre 5 et 25°C et un pH compris entre 6 et 7,5. Elle est connue pour son rôle dans l'amélioration de la structure du sol, l'augmentation de la fertilité des sols par la fixation d'azote et la réduction de l'érosion du sol.

I.3.2. Haricot (*Phaseolus vulgaris* L.)

Le haricot est une plante légumineuse dont les systèmes racinaires peuvent atteindre un mètre de profondeur si le sol s'y prête, Les tiges sont grimpantes, peu ramifiées et s'enroulent autour de leur support. Les feuilles adultes sont pétiolées, alternes, composées, trifoliées, de couleur verte ou pourpre et les fleurs sont groupées en grappe de 5 à 15 cm. Les fleurs sont de couleurs variées : blanche, crème, rose, violette (Razanadrakoto, 2005).

- Classification botanique

La classification du haricot selon Charles (1998) et Chaux et Foury (1994) *in* Andriamihadjia (2013) est comme suit :

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Rosales

Famille : Legumineuses

Genre : *Phaseolus*

Espèce : *Phaseolus vulgaris* L.

- Caractéristiques du haricot

Le haricot germe à des températures comprises entre 12 et 35°C. C'est une plante qui a besoin de la lumière. Elle préfère les sols légers, profonds et sains légèrement acides, ayant un pH variant de 6 à 6,8 (Razanadrakoto, 2005).

I.3.3. Fève (*Vicia faba* L.)

La fève *Vicia faba* L. est une plante annuelle portant une forte touffe de hautes tiges. Ses feuilles composées sont gris-vert. Ses fleurs blanches sont suivies de grosses gousses vertes noircissant à maturité. Ces gousses contiennent 4 à 8 graines. Elles sont riches en protéines, en magnésium, en potassium, en calcium, en vitamines ainsi qu'en fibres (Bentama, 2016).

- Classification

D'après Koev (1976) in Mezani (2016), la classification systématique de la fève est comme suit :

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Rosales

Famille : Fabacées

Genre : *Vicia*

Espèce : *Vicia faba* L.

- Caractéristiques

Cette plante méditerranéenne est peu exigeante sur le type de sol, à condition que ce dernier soit bien ensoleillé et pas trop acide. Son pH optimal se situe aux environs de 6,75. Mais elle tolère bien les pH compris entre 5,5 et 8. Sa température optimale de croissance se situe aux environs de 20°C (Foltete, 2010).

II. Méthodes

II.1. Préparation du sol

Après l'échantillonnage sur le terrain, le sol est préalablement séché à température ambiante. Il est, ensuite, broyé manuellement à l'aide d'un mortier puis tamisé à 2 mm. Ensuite, il est divisé en deux lots, le premier est contaminé avec du pétrole brut (5%) et le second est non contaminé.

II .2. Tests de germination

Ce test est réalisé le 07/02/2018. Il consiste à planter un total de 40 graines de luzerne (petites graines), 10 graines de fève et 10 graines de haricot dans des boîtes de Pétri contenant du sol. Le taux de germination est calculé comme suit :

Le pourcentage de germination : $(\text{nombre des graines germées} / \text{nombre total de graines}) * 100$

II.3. La mise en place de l'essai

Le semis a été réalisé pour les trois espèces (luzerne, haricot et fève) le 14/02/2018.

Les trois cultures sont réalisées dans des pots en plastique de 15 cm de diamètre et de 13 cm de hauteur ;

- Trois pots sont cultivés et non contaminés (1 pots pour chaque espèce).
- Neuf pots sont cultivés et contaminés (3 pots pour chaque espèce).
- Un pot est contaminé et non cultivé et un autre pot est non cultivé et non contaminé (sols témoins).

Dans chaque pot cultivé séparément, nous avons placé les graines de fèves, de haricot et de luzerne, Avant la mise en pot du sol, le fond du pot est tapissé par une couche de sable pour assurer le drainage.

L'arrosage et le suivi des cultures se fait régulièrement pendant une durée de deux mois et 15 jours.

II.4. Analyse physico-chimique du sol

Les analyses du sol que nous avons réalisées concernent les paramètres physico-chimiques suivants : potentiel d'hydrogène (pH), conductivité électrique, humidité et matière organique (MO). Les analyses sont faites pour les différentes types de sols (cultives et non cultivées, contaminés et non contaminés).

II.4.1. Potentiel d'hydrogène (pH)

Nous avons adopté le mode opératoire suivant :

- Peser 10g de l'échantillon tamisé à 2 mm ;
- Ajouter 25ml d'eau distillée, agiter pendant 10 minutes ;
- Laisser au repos pendant 2 heures ;
- Mettre l'électrode dans la solution à analyser puis effectuer la mesure après la stabilisation de l'appareil (pH mètre).

II.4.2. Conductivité électrique(CE)

Nous avons pesé 10 g de sol, que nous avons placé dans un bécher ; auxquels nous avons ajouté 50 ml d'eau distillée. Après une agitation de 2 min, nous avons laissé la solution au repos pendant 30 min puis nous l'avons filtré. La conductivité électrique est mesurée à l'aide d'un conductimètre.

II.4.3. Humidité

Nous avons pesé 15 g de sol tamisé à 2 mm prélever des pots cultivés, les échantillons sont séchés dans une étuve à 105 °C pendant 24 h après séchage une deuxième peser a été réaliser.

II.4.4. Matière organique (MO)

Dans une fiole conique de 250 ml, mettre 0.25 g de l'échantillon, ajouter 10 ml de solution de bichromate et 15 ml d'acide sulfurique à chaud concentré. Mettre à ébullition modérée pendant 5 minutes à compter de l'apparition de la première goutte de condensation, laisser refroidir puis transvaser dans un ballon jaugé de 200 ml et laver l'ermeneyer avec 150 ml d'eau distillée, compléter au volume.

Après l'homogénéisation, nous avons prélevé à l'aide d'une pipette, 20 ml de solution, que nous avons dilué avec 150 ml d'eau distillée puis nous avons ajouté 3 à 4 gouttes de diphénylamine et 1.5 g de fluorure de sodium en poudre. En fin, nous avons titré en agitant avec une solution de sel de Mohr à 0.2N.

II.5. Analyse microbiologique du sol

Pour isoler et dénombrer la microflore bactérienne et les champignons à partir des sols contaminés par le pétrole brut et des sols non contaminés, nous avons utilisé la méthode de suspension –dilution (Bouderhem, 2011).

II.5.1. Préparation de la solution mère

Dans un erlenmeyer, nous avons préparé la solution mère en mélangeant 10 g de sol sec avec 90 millilitres d'eau physiologique stérile. Cette solution est, ensuite, agitée à l'aide d'un agitateur pendant 20 minutes.

II.5.2. Préparation des suspensions dilutions

Les préparations des suspensions-dilutions consistent à disposer sur un portoir une série de 6 tubes stérilisés, numérotés de 1 à 6, et contenant chacun 9 ml d'eau physiologique stérile. Pipeter 1 ml de la solution mère et le verser dans le tube 1, agiter vigoureusement, c'est la dilution 10^{-1} . Transférer 1 ml de cette dernière dans le tube 2 contenant de l'eau physiologique stérile (9ml), il s'agit de la dilution 10^{-2} , agiter vigoureusement.

L'opération est répétée pour le restant des tubes en transférant 1ml de solution d'un tube à l'autre, afin de préparer les dilutions 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} . Les suspensions dilutions doivent être utilisées aussitôt après leurs préparations (figure 06).

II.5.3. Microflore bactérienne

Pour isoler les bactéries du sol, il suffit de prendre 1 μ l de chaque dilution et l'étaler à la surface d'un milieu de culture gélosé puis ensemencer sur boîte de Pétri contenant la gélose nutritive et incubé pendant 48 heures à 28°C. Le dénombrement après culture concerne, évidemment les cellules viables de l'échantillon autrement dit, les cellules capables de croître, Il est basé sur l'aptitude de chaque bactérie, fixée par la solidification du milieu gélosé, à former une colonie visible à l'aide d'un compteur de colonies (Austin ,1988 *in* Boudierhem ,2011).

II.5.4. Champignons

La méthode des suspensions dilutions, mise au point pour l'isolement des bactéries, est également utilisable pour les champignons.

Les champignons sont cultivés sur un milieu de culture PDA (annexe), et ensemencés avec des suspensions dilutions du sol. 1 μ l de chaque dilution (10^{-1} à 10^{-6}) est disposé sur des boîtes de Pétri comprenant le milieu PDA et étalé sur toute la surface de la boîte. Les boîtes sont incubées à l'étuve pendant 7 jours à 28°C. Le dénombrement est réalisé à l'œil nu.

Le schéma explicatif de la méthode de suspension-dilution est illustré par la figure3.

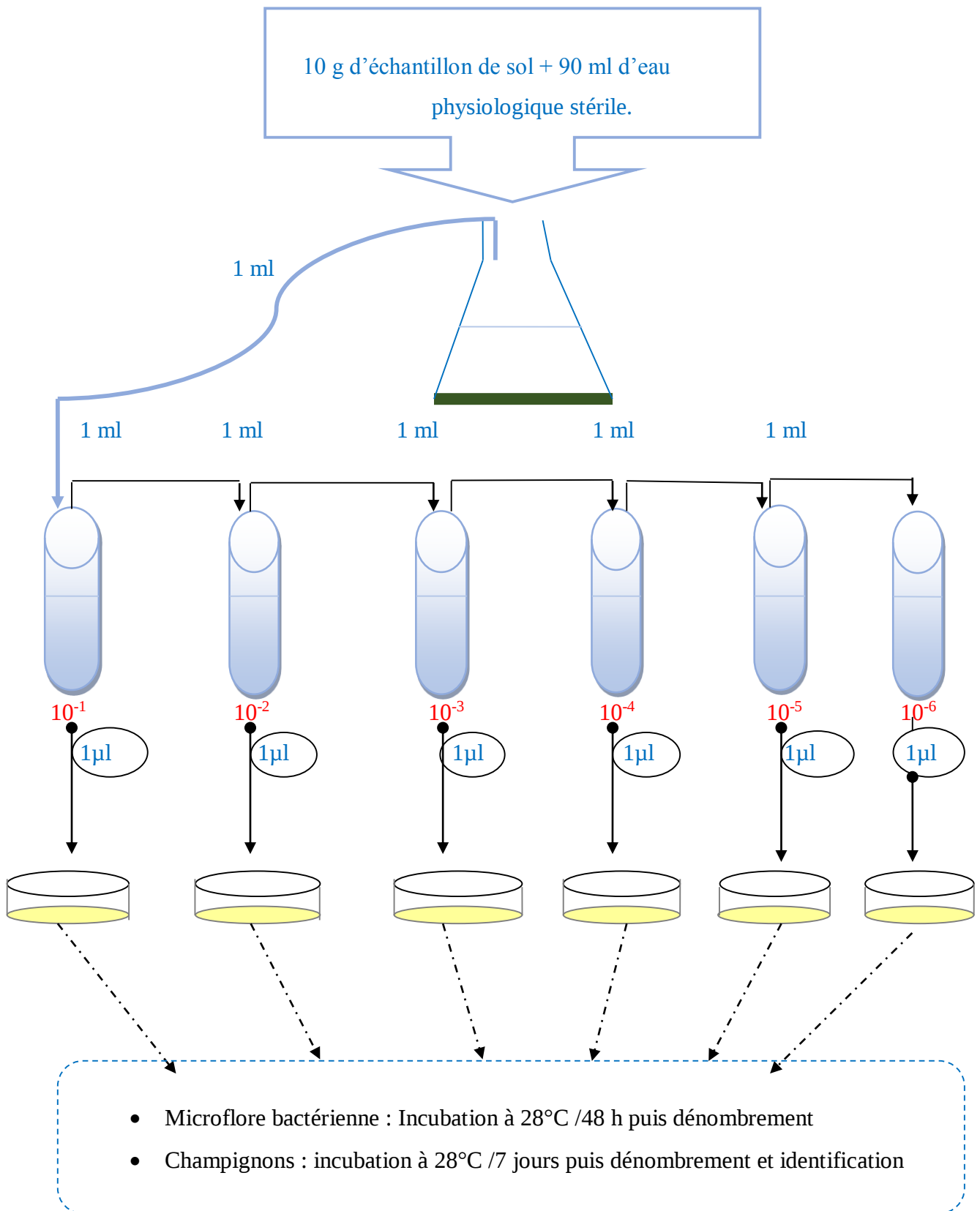


Figure 03 : Schéma explicatif des protocoles adoptés pour l'isolement des bactéries et des champignons à partir des sols contaminés et non contaminés.

II.6. Analyses statistiques

Les résultats concernant les paramètres physico-chimiques et microbiologiques pour les sols non contaminés et contaminés cultivés avec les trois espèces de légumineuses ont fait l'objet d'analyse de la variance(ANOVA) et du teste de kruskal-Wallis lorsque la normalité n'est pas vérifiée. La normalité des données a été vérifiée par le test de Shapiro-Will, avec une p-value supérieure à 0.05 pour chaque paramètre étudié. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel R.

Troisième chapitre : résultats et discussion

Résultats et discussions

I. Résultats

Avant de faire la culture des trois espèces luzerne, haricot et fève, nous avons analysé le sol de l'ITMA à l'état initial et nous avons fait un test de germination des trois espèces. Les résultats de ces analyses sont présentés dans l'annexe I.

Les figures ci-dessous, représentent les tests de germination des trois espèces étudiées. Nous avons constaté que les trois espèces de légumineuses ont germé, cela est, en raison de la disponibilité des conditions favorables (pH, température, humidité ...etc.) qui répondent le mieux aux exigences de chacune de ces plantes.



A : Haricot

B : luzerne

C : fève

Figure 4 : Tests de germinations des trois espèces végétales.

La viabilité des graines utilisées pour la culture a été démontrée après le test de germination avec un pourcentage élevé pour les trois espèces (100% pour la fève, 90 % pour le haricot et la luzerne avec un pourcentage de 70%) dans le sol non contaminé (figure 5)

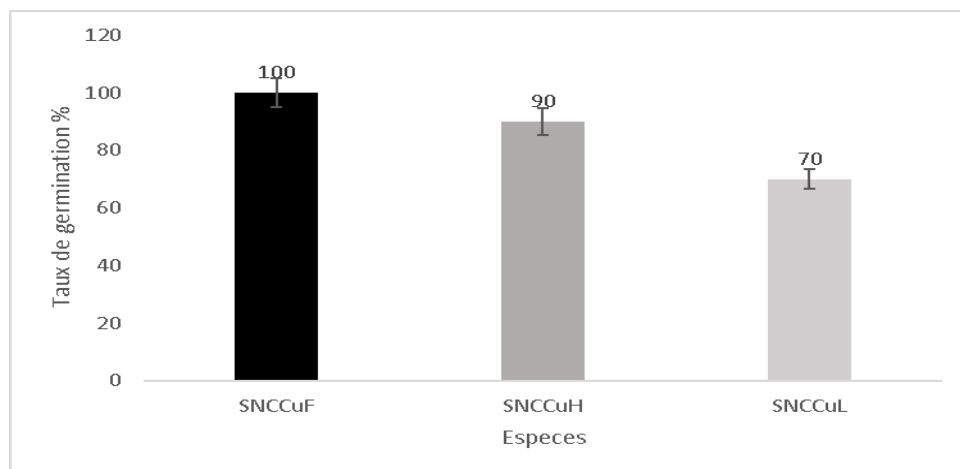


Figure 5 : Taux de germination des trois espèces

I.1. Effet des hydrocarbures sur le taux de levée des trois espèces végétales

Les résultats de l'analyse du taux de levée des différentes espèces, représentés dans la figure (6) montrent que le taux de levée des espèces : *Medicago sativa*, *Phaseolus vulgaris* et *Vicia faba* est bon pour le sol non contaminé par le pétrole brut avec des valeurs respectives de 85, 90 et 95 %. Cependant, dans les sols contaminés par le pétrole brut, le taux de levée est faible pour la luzerne il est de 35 % et il a diminué jusqu'à atteindre 65% pour le haricot et 75% pour la fève.

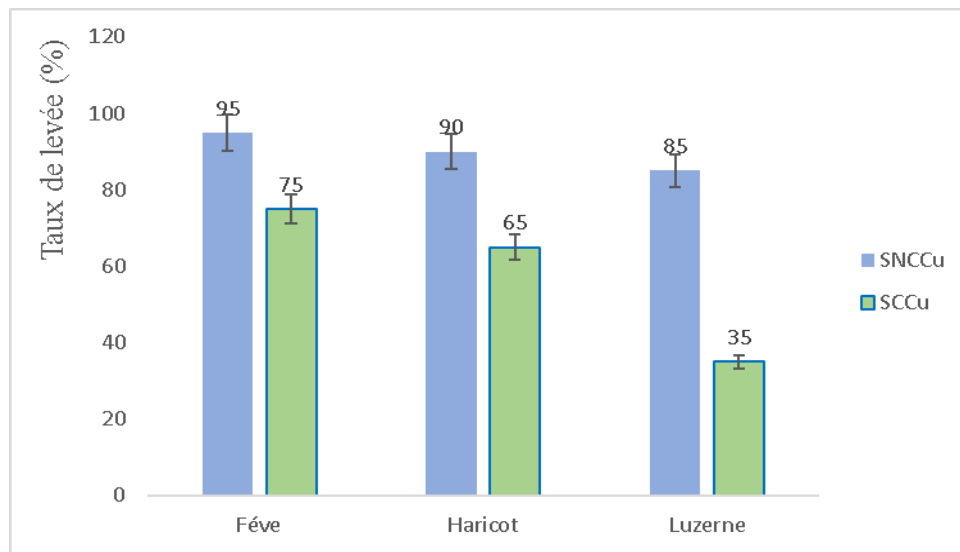


Figure 6 : taux de levée des trois espèces dans les deux sols (contaminé et non contaminé)

D'après les résultats du test de l'ANOVA pour le taux de levée, il y'a une différence très hautement significative pour le facteur sol ($P=0.0001454$) et hautement significative pour le facteur espèce ($P=0.0040634$) et significative pour l'interaction sol- espèce ($P=0.0346737$).

Le test statistique (annexe II) a donné 2 groupes homogènes concernant le taux de levée pour le facteur sol. Dans le groupe a nous retrouvons le sol non contaminé cultivé avec un taux moyen de levée de 90. Le groupe b englobe le sol contaminé cultivé avec un taux moyen de levée de 58.33

I.2. Effet des hydrocarbures sur le sol

Afin d'évaluer les effets des hydrocarbures, les analyses suivantes ont été effectuées sur le sol non contaminé cultivé et le sol contaminé cultivé avec les trois espèces (luzerne, haricot et fève)

I.2.1. pH du sol cultivé avec les trois espèces de légumineuses

Les résultats de nos analyses montrent que les pH sont alcalins pour les sols non contaminés cultivés avec la fève et le haricot avec des valeurs respectives de 8,34 et 8,22 et un pH très alcalin pour la luzerne qui est de 8,70 (Figure 7).

Pour les sols contaminés, nous avons remarqué une baisse des valeurs de pH des sols cultivés avec les trois espèces de légumineuse avec des valeurs de 8,09 pour la fève, 8,18 pour le haricot et 8,22 pour la luzerne. Selon La gamme de pH du sol Gaucher et Soltner 1981 nous classons ces échantillons dans les sols alcalins.

Pour les sol témoins, ils sont alcalins mais le sol non cultivé non contaminé présente une valeur de pH de 8.02, supérieure à la valeur du sol contaminé non cultivé qui est de 7,61 (figure 7). Ces deux sols sont aussi légèrement alcalins.

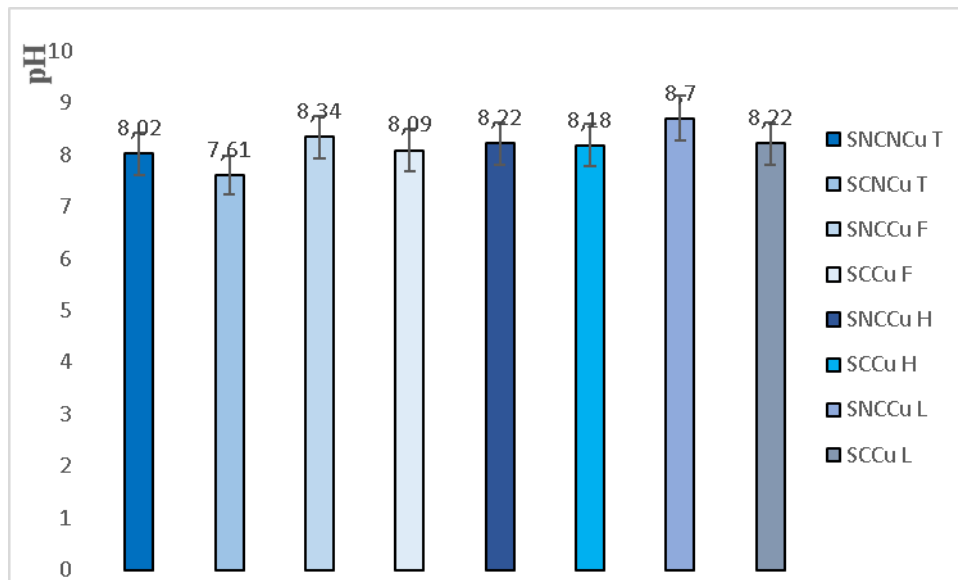


Figure 7 : pH des sols cultivés avec les trois espèces de légumineuses.

D'après les résultats traités par l'ANOVA pour le pH, il y'a une différence très hautement significative pour le facteur sol ($p = 0.0001847$).

Le test de Newman et Keuls (annexe II) a donné 4 groupes homogènes concernant le pH. Pour le facteur sol, le groupe a renferme le sol non contaminé cultivé avec un pH de 8.425000. Dans le groupe a-b, nous avons le sol contaminé cultivé avec un pH moyen de 8.168333. Le groupe b correspond au sol non contaminé non cultivé avec un pH moyen de 8.025000. En fin, le groupe c regroupe le sol contaminé non cultivé avec un pH moyen de 7.610000.

I.2.2. Matière organique des sols cultivés par les trois espèces

Les résultats obtenus (figure 8) montrent que la matière organique des sols non contaminés cultivés est inférieure à celle des sols contaminés cultivés avec les trois espèces végétales. Ainsi :

- Pour la fève le taux de la matière organique est de 0.15 % dans le sol non contaminé et 0.5 % dans le sol contaminé.
- Pour le haricot, il est de 0.13 % dans le sol non contaminé et 0.55 % dans le sol contaminé.
- Pour la luzerne, il est de 0.24 % dans le sol non contaminé et 0.37% dans le sol contaminé.

Les résultats obtenus montrent aussi que les pourcentages de la matière organique dans les sols témoins (sols contaminés non cultivé et sol non contaminé non cultivé) sont respectivement de 0.41 et 0.24 %. Toutes les valeurs obtenues sont inférieures à 1 donc d'après la classification de Soltner (1981), les sols sont extrêmement faibles en matière organique.

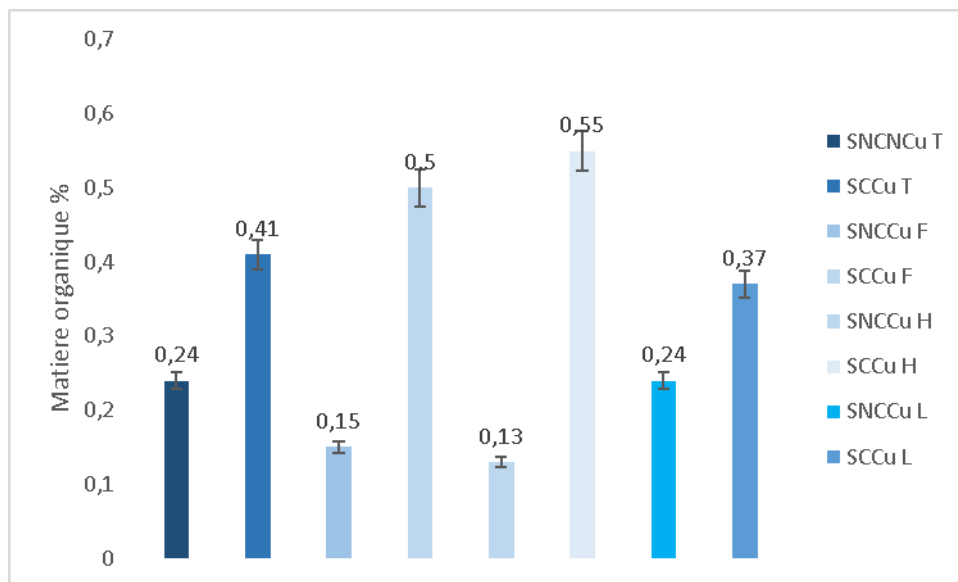


Figure 8 : Taux de la matière organique des trois espèces dans le sol contaminé et non contaminé.

D'après les résultats traités par l'ANOVA pour la matière organique, il y'a une différence très hautement significative pour le facteur sol ($P=5.944e-05$).

Le test de Newman et Keuls (annexe II) concernant la matière organique pour le facteur sol a donné 2 groupes homogènes. Le groupe a représenté le sol contaminé cultivé avec un taux moyen de matière organique de 0.47 et le sol contaminé non cultivé avec un taux moyen de matière organique de 0.41. Le groupe b renferme le sol non contaminé non cultivé avec un taux moyen de matière organique de 0.245 et le sol non contaminé cultivé avec un taux moyen de matière organique de 0.17.

I.2.3. Conductivité électrique

Les résultats de la conductivité électrique des sols non contaminés et contaminés cultivés avec les espèces de légumineuses sont illustrés par la figure 9 :

Pour les sols contaminés cultivés avec la luzerne, la fève et le haricot, les valeurs de la conductivité électrique sont respectivement de 0.49, 0.52 et 0.42 μS . Selon l'échelle de salinité du sol (USSL, 1981), ces trois sols ne sont pas salés.

Pour les sols non contaminés cultivés avec les trois espèces les valeurs de la conductivité électrique sont de 0.60 μS pour la luzerne, 1.10 μS pour la fève et de 0.44 μS pour le haricot, ils sont peu salés selon l'échelle de salinité du sol (USSL, 1981).

Les résultats obtenus (figure 9) montrent que les valeurs de la conductivité électrique du sol non contaminé et non cultivé sont de 0.95 μS et de 0,5 μS pour le sol contaminé non cultivé. Selon l'échelle de salinité du sol (USSL, 1981), les sols que nous avons analysés ne sont pas salés.

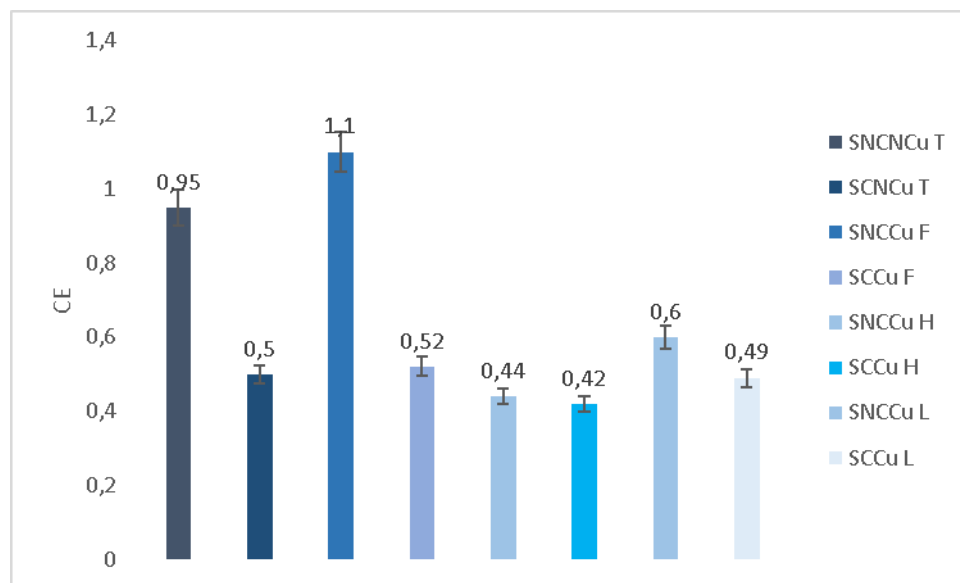


Figure 9 : conductivité électrique pour des différents sols contaminés et non contaminés, cultivés avec les trois espèces.

Le test de Kruskal Wallis, pour la conductivité électrique révèle qu'il n'y a pas de différence significative pour le facteur sol ($P = 0.1415$).

I.2.4. Humidité :

Pour les sols non contaminés cultivés (figure 10), nous avons le sol portant la fève présente un taux d'humidité de 9.51%, celui portant le haricot 9.4%. Enfin, le sol cultivé avec la luzerne présente un taux d'humidité de 9.55%.

Pour les sols contaminés cultivés avec les trois espèces végétales (figure 10), nous avons, des taux d'humidité semblable estimés à 9,2%.

Selon les résultats rapportés par la figure 10, il y'a une diminution du taux d'humidité dans le sol contaminé non cultivé (6.2%) par rapport au sol non contaminé et non cultivé (7.943%).

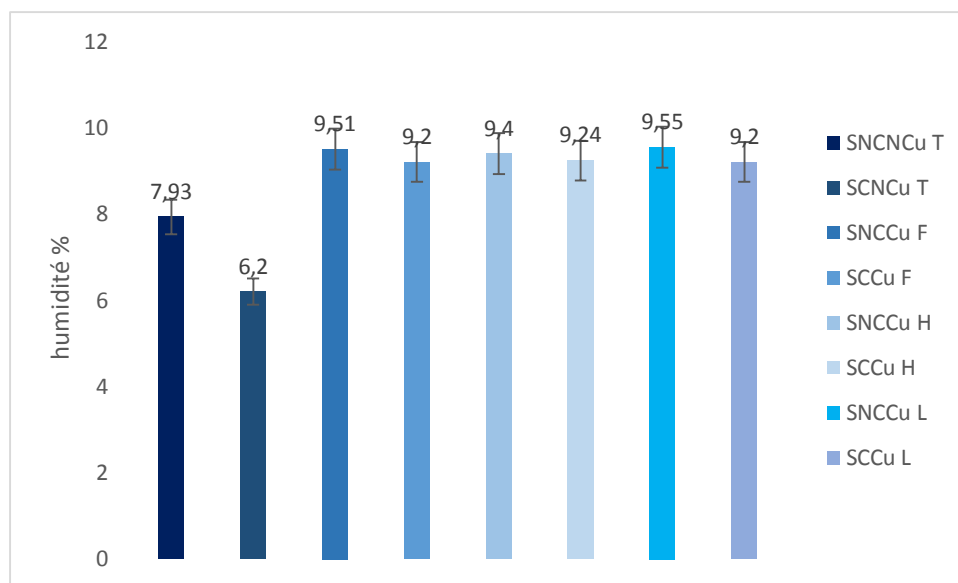


Figure 10 : Humidité moyenne des différents sols contaminés et non contaminés cultivés avec les trois espèces.

Le test de Kruskal Wallis, montre que le taux d'humidité varie de façon significative pour le facteur sol ($P = 0.003721$).

Le test statistique (annexe II) du taux moyen d'humidité a donné 3 groupes homogènes. Le groupe a renferme le sol non contaminé cultivé avec un taux moyen d'humidité de 13.5%. Dans le groupe b, nous retrouvons le sol contaminé cultivé avec un taux moyen d'humidité de 7.5% et le groupe c englobe le sol non contaminé non cultivé avec une humidité moyenne de 3.5 % et le sol contaminé non cultivé avec un taux moyen 1.5 %

I.3. Microflore du sol

I.3.1. Biomasse bactérienne du sol

Les résultats (figure 11) montrent que le nombre de bactéries est élevée dans les sols contaminés cultivés avec les trois espèces (fève : 105×10^3 colonie /10g sol sec, haricot : 113×10^3 colonie/10 g sol sec et luzerne : 86×10^3 colonie/10 g sol sec par rapport au sol non contaminé cultivé avec la fève, le haricot et la luzerne à des valeurs respectivement de 88×10^3 , 88×10^3 , 17×10^3 colonies /10 g sol sec.

A partir des résultats représentés dans la figure 11, il ressort que le nombre de bactéries est élevé dans le sol contaminé et non cultivé par rapport au sol non contaminé et non cultivé avec les trois espèces avec des valeurs respectivement de 60×10^3 colonie /10 g sol sec et 20×10^3 colonie /10 g sol sec.

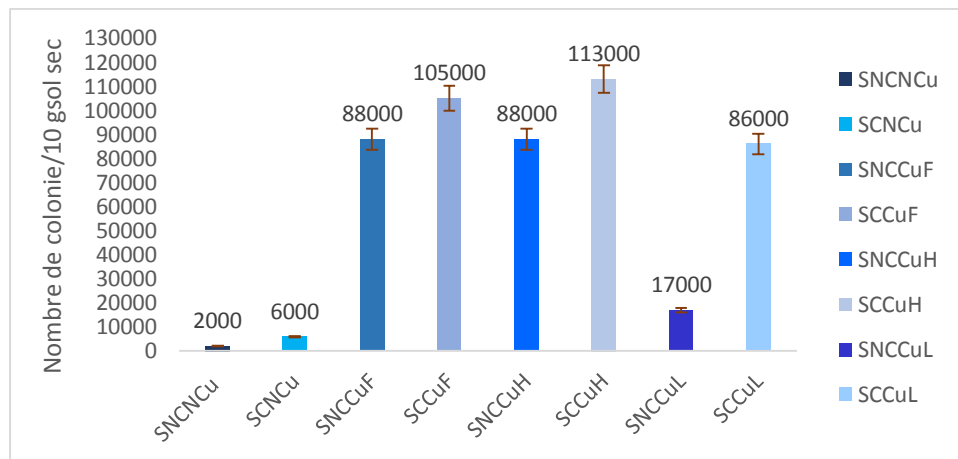


Figure 11 : Nombre de colonies bactérienne dans les deux sols (contaminés et non contaminés) cultivées avec les trois espèces végétales.

Le test de l'ANOVA pour la biomasse bactérienne révèle une différence très hautement significative pour le facteur sol ($P = 4.599 \times 10^{-5}$) et le facteur espèce ($P = 0.001947$) et une différence hautement significative pour l'interaction sol- espèce ($P = 0.0124669$).

Le test de Newman et Keuls (annexe II) concernant la biomasse bactérienne pour le facteur sol a donné 3 groupes homogènes. Dans le groupe a nous avons le sol contaminé cultivé avec une moyenne 101.33 colonie /10 g sol sec et le groupe b regroupant le sol non contaminé cultivé avec une moyenne de 64 colonies /10 g sol sec et le sol contaminé non cultivé avec une moyenne de 60 colonie /10 g de sol sec. Le groupe c quant à lui est présenté par regroupant le sol non contaminé et non cultivé avec une moyenne de 20 colonie /10 g de sol sec.

I.3.2. Champignons

Les résultats obtenus pour le nombre moyen de champignon présentés dans la figure 12 montrent que : pour les sols contaminés cultivés par les légumineuses, 51×10^3 colonie/10g sol sec est obtenu dans le sol cultivé par la fève, 43×10^3 colonie/10g sol sec dans le sol cultivé par le haricot et la luzerne 63×10^3 colonie/10g sol sec.

D'après les résultats obtenus (figure 12), le nombre de champignons dans le sol contaminé non cultivé est de 28×10^3 colonie /10 g sol sec et il est supérieur à celui du sol non contaminé et non cultivé avec les trois espèces qui est de 7×10^3 colonie/ 10g sol sec.

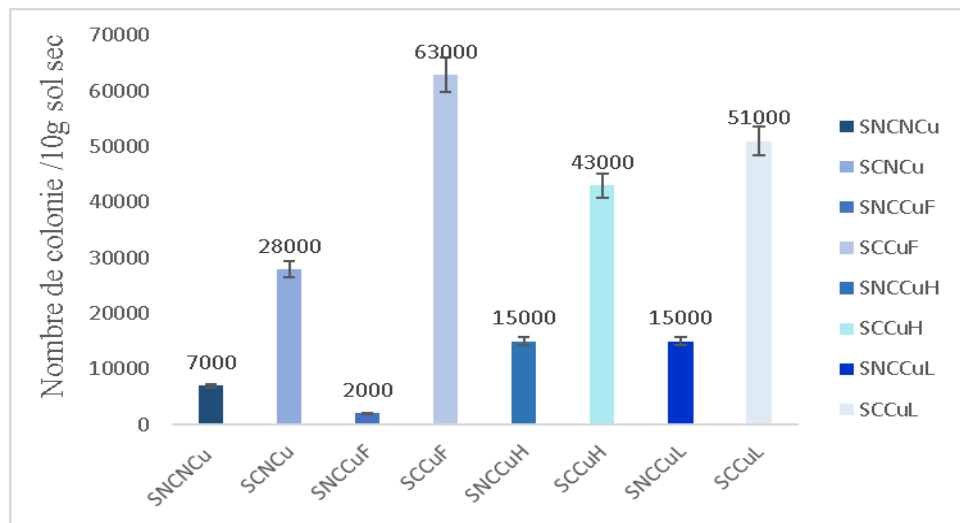


Figure 12 : Nombre de champignons en colonie / 10 g sol sec dans les deux sols (contaminé et non contaminé) cultivés avec les trois espèces.

Les résultats de l'ANOVA montrent que le nombre moyen de champignons, diffère de façon très hautement significative pour le facteur sol ($P = 8.024 \times 10^{-5}$) et ne diffère pas selon l'espèce végétale ($P = 0.721183$). Il diffère de façon significative pour l'interaction sol - espèce ($P = 0.03978$).

Le test de Newman et Keuls (annexe II) concernant le nombre moyen de champignons pour le facteur sol a donné 3 groupes homogènes. Le groupe a est représenté par le sol contaminé cultivé avec un nombre moyen de colonie/g sol sec de 52.000. Dans le groupe b nous avons le sol contaminé non cultivé avec un nombre moyen de colonies/10 sol sec 27.50. Le groupe c regroupe le sol non contaminé cultivé avec un nombre moyen de 10.33 colonies/10g sol sec et le sol non contaminé et non cultivé avec un nombre moyen de 7.00 colonies/10g sol sec.

I.3.2.1. Identification de quelques espèces de champignons

***Alternaria alternata* :**

Au microscope à faible grossissement (GrX100), le champignon *Alternaria alternata* se présente sous la forme de longs filaments mycéliens (hyphes) (figure 13).

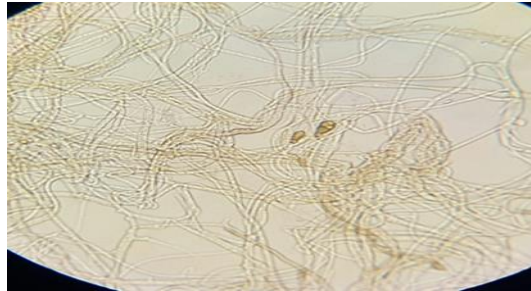


Figure 13 : Observation des filaments d'*Alternaria alternata* (GrX10) (originale,2018)

***Cladosporium* sp :**

Les colonies apparaissent de couleur brun -vert foncé, veloutées et poudreuses (figure 14)



Figure14 : Observation du champignon *Cladosporium* sp (originale,2018).

***Aspergillus niger* :**

Au microscope optique on voit des têtes conidiennes, bisériées, radiées, disposées en plusieurs colonnes brunâtres ou noires. Des longs hyphes avec plusieurs conidiophores qui terminent dans une grande vésicule à plusieurs spores (figure 15).



Figure 15 : Observation des filaments d'*Aspergillus niger* (originale,2018)

Mycéila sterila

Au microscope optique à grossissement (X400) le mycélium est composé d'un ensemble de filaments, plus au mois ramifiés. La figure 16 présente *Mycélia sterillia* sous microscope.



Figure16 : Observation des filaments de *Mycélia sterillia*(GrX400) (originale,2018)

***Penicillium* :**

Ce champignon se présente sous forme de colonies plates, formées de courts filaments apparaissant de couleur vert noirâtre avec un aspect velouté à poudreuse et pas de pigments (figure17)

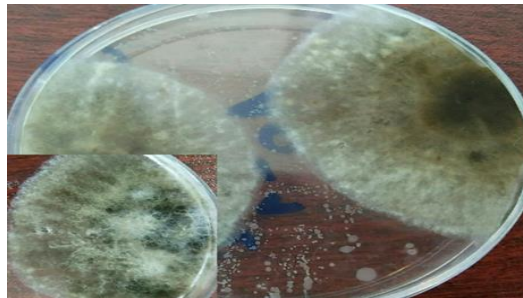


Figure 17 : Observation des colonies de *Penicillium* sp (originale,2018)

***Fusarium* sp:**

Les *Fusarium* sp forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur rouge orangée et rose (figure 18)

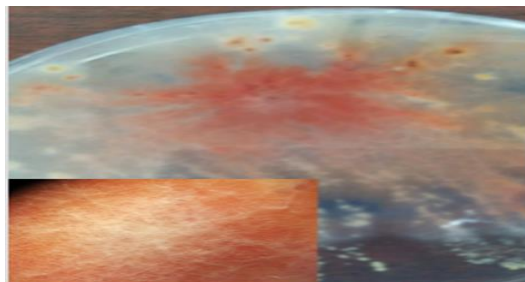


Figure 18 : Observation des colonies de *Fusarium* (Grx100) (Originale,2018)

II. Discussion

II.1. Effet des hydrocarbures sur le taux de levée des trois espèces végétales :

La levée constitue un premier diagnostic de réussite d'une culture (Souici, 2014).

D'après les résultats que nous avons eu, une diminution des taux de levées dans les sols contaminés cultivés avec les légumineuses a été observés par rapport aux sols non contaminés cultivés avec les trois espèces (pour la luzerne dans le sol non contaminé le taux de levée était de 85%, il a diminué dans le sol contaminé jusqu' à atteindre les 35 %). Ceci est peut-être dû à la contamination par le pétrole brut à 5 %. Selon les travaux de Chaudhry et *al* (2012), D'après Kyung-Hwa et *al* (2004), les symptômes les plus communs et les plus importants observés sur les plantes contaminées avec de l'huile et ses produits dérivés comprennent la dégradation de la chlorophylle, des altérations du mécanisme stomatique, réduction de la photosynthèse et la respiration, la diminution de la biomasse.

II.2. Effet des hydrocarbures sur le sol

II.2.1. pH du sol cultivé avec les légumineuses

D'après les résultats obtenus par la mesure du pH des deux sols contaminés cultivés avec les légumineuses et non contaminés cultivés avec les légumineuses, le pH a tendance de diminuer dans les sols contaminés cultivés par les légumineuses (luzerne : 8.70) par rapport aux pH des sols non contaminés (luzerne : 8.22). Nous pouvons expliquer ces résultats, soit par la contamination des sols par le pétrole brut, comme il peut être lié aux légumineuses car ces dernières peuvent modifier le pH du sol. Selon les travaux de Betencourt (2012) et Bergagli (1998) in Chaib (2013), les légumineuses sont distinguées par leurs capacités de diminuer le pH de leurs rhizosphères, du fait de leur faible prélèvement d'anions lors de la fixation de N₂, et leurs racines peuvent ainsi libérées des sécrétions, des cellules mortes ... etc. dans leurs entourages ce qui a pour effet de changé le potentiel redox et de faire baisser le pH. D'après Soltani (2004), la contamination des sols par les hydrocarbures entraîne une diminution de pH des sols.

II.2.2. Matière organique

Les résultats du taux de matière organique dans les deux sols contaminés cultivés avec les trois espèces et les sols non contaminés cultivés avec les trois espèces montrent que le taux de matière organique varie dans les deux sols, nous avons constaté qu'il y'a une augmentation de matière organique dans les sols cultivés contaminés (Haricot 0.55) par rapport aux sols non contaminés (Haricot 0.15), cette élévation peut être le résultat de la contamination des sols par le pétrole brut. Selon les travaux de Fayeulle (2013), il y'a une interdépendance complexe entre

contamination en hydrocarbures et teneurs en matières organiques dans les sols. La teneur en matières organiques influence, en effet, la séquestration des hydrocarbures. La biodégradation des hydrocarbures influence les teneurs en matières organiques. Le développement des microorganismes dans les sols est influencé par les ressources en nutriments et particulièrement par les sources de carbone et d'azote qui représentent les principaux constituants des molécules organiques.

II.2.3. Conductivité électrique

La salinité globale du sol peut être exprimée par la conductivité électrique (CE). Les résultats de la conductivité électrique obtenus nous montrent qu'il n'y'a pas une différence significative entre les différents sols contaminés cultivés avec les légumineuses et non contaminés cultivés avec les légumineuses. La salinité diminue le nombre de microorganismes dans le sol. Elle ralentit les processus de l'humification et de la minéralisation des matières organiques.

II.2.4. Humidité

La mesure du taux d'humidité des échantillons de sol montre que le taux d'humidité des sols contaminés cultivés avec les trois espèces (exemple : luzerne 9.2) est inférieur par rapport au taux d'humidité des sols non contaminé cultivé par les trois espèces (exemple : luzerne 9.55).

Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet de la pollution par le pétrole brut sur l'humidité du sol. Les travaux de Degrange et *al* (1977) in Bergue (1985), montrent que les parcelles de terre non contaminées par les hydrocarbures ont une humidité importante que celle des parcelles de terre contaminées. L'humidité est un paramètre important dans les processus de dégradation des composés organiques simples ou complexes. Il est connu que les faibles humidités limitent la vitesse de biodégradation (Perraud, 2004 in Belmenai, 2015).

II.3. Microflore du sol

II.3.1. Biomasse bactérienne du sol

D'après les résultats représentés dans le graphique (11), il ressort que le nombre de bactéries varie dans les deux types de sol (contaminés cultivés par les légumineuses et non contaminés cultivés par les légumineuses). Ce nombre est élevé dans le sol contaminé et cultivé (86×10^3) avec les trois espèces par rapport au sol non contaminé cultivé avec les légumineuses (17×10^3).

Cette élévation du nombre microbien dans le sol cultivé par une légumineuse est due certainement aux taux d'humidité et probablement aux pH favorable (Bouderhem ,2011), et une salinité moins importante, ce qui stimule la prolifération des germes microbiens. Les bactéries utilisent le pétrole comme source de carbone ce qui peut également expliquer leurs proliférations dans le sol contaminé par rapport au sol non contaminé. Selon Selmoun (2016), l'évolution de la biomasse microbienne dans les sols pollués par les hydrocarbures est le résultat de l'adaptation des bactéries aux conditions extrêmes, et l'utilisation de xénobiotiques comme source de carbone et d'énergie. Plusieurs microorganismes du sol ont un grand potentiel pour la bio remédiation, parmi les groupes de bactéries connus pour leurs dégradations des hydrocarbures nous avons *Pseudomonas sp*, *Micrococcus sp*, *Salmonella sp*, *Bacillus sp* et *Proteussp* (Bouderhem ,2011)

II.3.2. Champignons

D'après les résultats obtenus du dénombrement des champignons, nous avons constaté que le nombre de la microflore fongique sous légumineuses dans un sol contaminé (exemple : luzerne 63×10^3) est plus importante à celle d'un sol non contaminé cultivé par les légumineuses (exemple : luzerne 2×10^3). Ceci s'explique peut-être par l'utilisation du pétrole par les champignons comme source de nutriment, et aussi par l'adaptation des champignons à ces quantités des hydrocarbures dans l'environnement. Selon les travaux de Obire (2008) et Maamare (2015), Les champignons peuvent transformer les hydrocarbures de façon métabolique en métabolites moins toxiques par l'action de pyroxydase et de monooxygénase. Après l'identification des champignons nous avons constaté la présence de *fusarium sp*, *aspergillus niger*, *penicilium sp*, *cladosporium sp* dans des sols contaminés, cette présence révèle peut-être la dégradation du pétrole brut. Selon les travaux de Obire (2008), Pour la microflore fongique, les espèces connues par leurs dégradations du pétrole à 5% nous avons *Aspergillus sp*, *Cladosporium sp*, *Fusarium sp*, *Geotrichum sp*, *Mucor sp*, *Penicilliumsp* et *Candida sp*.

D'après les résultats on a constaté que le nombre des bactéries est supérieure par rapport au nombre de champignons, ceci peut être dû à l'effet du pH basique du sol. Selon Dedier (2016), Les champignons sont souvent plus tolérants aux conditions acides (pH<5) que les bactéries (pH de 6 à 8).

Conclusion

Le premier objectif du présent travail consiste à étudier quelques propriétés physico-chimique du sol contaminé et non contaminé cultivé avec trois espèces de légumineuses, le second, consiste à faire une étude microbiologique des mêmes sols afin de dénombrer la microflore bactérienne et fongique et identifier quelques champignons.

Les résultats de ces analyses montrent que :

Le taux d'humidité est variable d'un sol à un autre, il est influencé par la contamination. On constate une diminution au niveau du sol contaminé cultivé avec les trois espèces contrairement au sol non contaminé cultivé, elle influence grandement sur biodégradation des hydrocarbures.

Pour le potentiel d'hydrogène des sols, ont tous un pH alcalin, élevé légèrement au niveau du sol contaminé cultivé par rapport au sol non contaminé cultivé avec les légumineuses. Et une salinité moins important dans les deux sols (contaminé cultivé, et non contaminé cultivé), En ce qui concerne le taux de la matière organique les résultats montrent une différence significative entre les sols, légèrement élevé dans le sol contaminé cultivé avec les légumineuses par rapport au sol non contaminé cultivé.

Les résultats du dénombrement des différents groupes microbiens, montrent que le nombre de microorganismes varie considérablement d'une culture à une autre, le maximum, est enregistré dans le sol contaminé cultivé avec les légumineuses par rapport au sol non contaminé cultivé avec ces trois espèces.

Après le dénombrement, nous avons identifié quelques espèces fongiques (*Aspergillus niger*, *Alternaria*, *Fusarium* et *cladosporium*), ces dernières sont retrouvées au niveau des sols contaminés et cultivés avec les trois espèces de légumineuses.

D'après les résultats obtenus, nous avons pu identifier le rôle des microorganismes, dans la dépollution des sols pollués, qui se traduit par l'élévation de leurs biomasses dans les sols contaminés par rapport aux sols non contaminés, ces êtres vivants jouent un rôle très important en décomposant la matière organique (les hydrocarbures). Ce mécanisme exige des conditions favorables du milieu (pH, matière organique, températures, humidité) pour permettre le bon déroulement de la biodégradation du polluant organique.

A travers cette étude, nous constatons que la méthode de traitement biologique s'avère la solution optimale, du fait qu'elle ne demande pas trop d'appareillage, ni de grand budget. Il est,

cependant recommandé de prendre en considération d'autres points pour approfondir cette étude, telle que l'identification des souches bactériennes isolées à partir des différents sols et connaître le mécanisme de leurs résistances, la connaissance du rôle des champignons dans la dégradation des hydrocarbures et leurs relations avec les bactéries et également la valorisation de cette méthode à grande échelle et favoriser les technologies « in situ » dont la phytoremediation. Il serait aussi important de connaître les mécanismes enzymatiques impliquées dans la dégradation et la transformation des hydrocarbures qui permettra d'optimiser les techniques de phytoremédiation.

Références bibliographiques

Allen, F., & Kerchouni Kamal. (2000). Contribution à l'étude pédologique et mycologique du sol de l'olivieraie (THINIRI) située à Boghni. Mémoire de Master ,UMMTO, microbiologie du sol,40 p

Abdelly, C. (2007). *Bioremédiation /Phytoremediation*. Thèse de doctorat, Institut supérieur de l'éducation et de la formation continue, Tunis, 32 p.

Ali ahmed, S. (2011). Essai de réhabilitation d'un sol contaminé par les hydrocarbures à l'aide des tensioactifs obtenus par voie biologique. Mémoire de Magister en sciences agronomiques INRA d'Alger, 135 p.

Agbogidi, O. M., & Ilondu, E. (2013). Effects of spent engine oil on the germination and seedling growth of *Moringa oleifera* (Lam.). Journal of Agricultural Science , vol :3(6),Pp 2-39-243 .

Abbia, S., & Guitoun, L. (2013). Les methodes de traitement des sols pollués par les hydrocarbures pétroliers. Mémoire de Master ,Université Kasdi Merbah -Ouargla , 40 p.

Amiri, N. (2013). Effets des hydrocarbures sur quelques propriétés du sol et essai de décontamination biologique. Mémoire d'ingénieur d'état en biologie , U.M.M.T.O, 45 p.

Andriamihadja, D. J. (2013). Détermination de la capacité de nodulation de quelques lignées du haricot. Cas du moyen ouest de Madagascar. Mémoire de Master 2, Sciences Agronomiques. 58 p.

Bergue, J.M. (1985). La pollution des sols par les hydrocarbures. Technique supérieur, services physique -Géni urbain Laboratoire régionale de Rouen, 9 p.

Bouderhem, A. (2011). Utilisation des souches bactériennes telluriques autochtones dans la biodétection et la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures. Mémoire de Magister, microbiologie appliquée, université kasdi Merbah-Ouargla, 91p.

Belgarbi-Dutron, L. (2012). Morphologie de la levure *Alternaria alternata*,département biologie. Université de Lyon , 3 p.

Betencour,E .(2012). Interaction entre céréale et légumineuse en association et acquisition de phosphore du sol. Thèse de doctorat, Université des Sciences Agronomiques de Montpellier, 244 p.

- Bekenniche, N. (2014). Caractérisation des activités de biodégradation des hydrocarbures par différents genres microbiens isolés de sites contaminés. Diplôme de Magister en biologie moléculaire, Université d'Oran, 129 p.
- Boufiane, M. (2015). Recherche de la performance de quelques souches bactériennes dans la réhabilitation de deux types du sol pollué par les hydrocarbures. Mémoire de Magister en Biologie Université Kasdi Merbah Ouargla, 83 p.
- Benlakhdar, M. (2015). Contribution à l'étude de l'influence de la disponibilité de l'azote sur la tolérance au stress abiotique chez *Medicago sativa* L. Memoire de Master , Université Sidi Mohamed Ben Abdellah , Sciences et Techniques:gestion et conservation de la biodiversité ,74 p.
- Belmenai, M., Ben-Hafed, N. (2015). Isolement et caractérisation des bactéries hydrocarbonoclastes. Mémoire de master en écologie microbienne, Université des Frères Mentouri Constantine ,66 p.
- Benbrahim, K.,Fadel, M., Farah, A., Ihssane , B., & Haloui, T. (2015). Le dépistage des paramètres influençant l'hydrodistillation du marocain *Myrtus communis* L. feuille par expérience méthodologique de conception. international journal of current Research, Vol: 7 n 8 ,Pp 19482-19489 .
- Bentama, N., & Boursas, S. (2016). Etude de la variation chromosomique chez l'espèce *Vicia faba* L. memoir de master, Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie Filière : Sciences Biologiques Spécialité Biologie, 72 p.
- Brogard, J. (2016). Nature morte (le XXI^e siècle deviendra écologique ou ne s'achèvera pas). Éd : ISBN, 326 p.
- Benchouk, A. (2017). Bioremédiation des sols pollués de pétrole par les micro-organismes et amélioration génétique de leurs pouvoirs.These de doctorat ,Université de Mostaganem,microbiologie appliquée,199p.
- Beauchamp, S. (2017). La provenance des boutures influence-t-elle le rendement et les taux de phytoextraction des saules dans un sol contaminé ? Mémoire d'obtention du grade de M. Sc, département de Sciences Biologiques, Université de Montréal, 74 p.
- Chantigny, M., & Angers, D. (2005). Activité microbiologique et qualité des sols : quoi de neuf sous nos pieds. édition CRAAQ, Pp 2-10 .

- Clément, M., & Pieltain, F. (2009). Analyse chimique des sols. Edition TEC et DOC, 387 p.
- Colombano, A., Saada, V., Guerin, P., Bataillard, G., Bellenfant, S., Beranger, D., Hube, C., Blanc, Zornig, Girardeau, S. (2010). Quelles techniques pour quels traitements ? Analyse coûts bénéfiques. Rapport final BRGM-RP-58609-FR, 403 p.
- Colas, D. (2012). Etude de la bioraffinerie des plantes vertes : Application au fractionnement des protéines de luzerne par extraction bi-vis et chromatographie hydrophobe. Thèse de doctorat, Université, Sciences des agroressources, Toulouse, 279 p.
- Chaudhry, S., Jyoti Luhach, Vandana Sharma, & Chetan Sharma. (2012). Assessment of Diesel Degrading Potential of Fungal Isolates from Sludge Contaminated Soil of Petroleum Refinery, Haryana. *Revue Research Journal of Microbiology*, Vol :7(3), Pp 182-190.
- Chaba, K. (2013). Comparaison de l'association fève -orge et de la fève cultivé seul dans un essai de phytoremédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures. Mémoire de Master, U.M.M.T.O. 39 P.
- Duchaufour, p. (2004). Introduction à la science du sol : végétation, environnement. 2e cycle 6eme édition. Ecoles d'ingénieurs. CAPES : Ed DUNOD, 331 p.
- Djerbaoui, A. (2011). Utilisation de souches bactériennes autochtones dans la production de biosurfactant et la bioremediation des sols de Hassi Messaoud contaminés par les hydrocarbures. Diplôme de Magister, département de science de la nature et de la vie, microbiologie appliquée, Ouargla, 133 p.
- Dequiedt, B. (2016). Le coût de l'atténuation des émissions de gaz à effet de serre liées à la fertilisation des cultures. Thèse de doctorat, université paris-Saclay, 165 p.
- ES-Skalli, A. (2015). Analyse physico-chimique des sols Agricoles. Mémoire de Master en sciences technique, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Faculté des Sciences et Techniques, 43 p.
- Fayeulle, A. (2013). Etude des mécanismes intervenant dans la biodégradation des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques par les champignons saprotrophes telluriques en vue d'applications en bioremédiation fongique de sols pollués. Thèse de doctorat, Ecole de doctorat 104 Science de la matière, du Rayonnement et de l'environnement, 204 p.

- Gaudu, F. (2014). Bioremediation des sols pollués aux hydrocarbures, les hydrocarbures aromatiques et les alcanes. Mémoire master 2 de l'université de renne , 27 p.
- Gruyer, N., Groleau , P., Ouellet , A., & Dupont , R. (2015). Hydrocarbures pétroliers : caractéristiques, devenir et criminalistique environnementale – Études GENV222 et GENV23, Évaluation environnementale stratégique globale sur les hydrocarbures. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 55p.
- Henner, P. (2000). Phytoremédiation appliquée au traitement de sols contaminés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques. thèse de doctorat , Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaire Phytoremédiation. Institut National Polytechnique, Lorraine, 192 p.
- Hénault-Ethier, L. (2016). phytoremédiation : des avantages certains Article. David Suzuki Fondation and Université Laval, Ph.D. Sc. Env., consultante et conseillère scientifique indépendante, Québec, Canada, 6 p.
- Hayek, T., Auber, G., Annicchiarico, P. (2017). La culture de la luzerne dans un climat méditerranéen, 20 p.
- Hocinat, A. (2018). Biodégradation de quelques composés organiques volatils et certains pesticides par des actinomycètes provenant d'un sol agricole et de boues activées. Thèse de doctorat de 3ème cycle , Biotechnologies Microbiennes ,Génome et Environnement Parn, 223 p.
- Jouanin , F. (2004). Etude de la mobilité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) contenus dans un sol industriel pollué . Thèse de doctorat , Ecole doctorale de chimie de Lyon, 209 p.
- Kyung-hwa, B., Hee-sik, K., Hee-mock, O., Byung-dae, Y., Jaisoo, K., In-sook, L. (2004). Effects of crude oil, oil components, and bioremediation on plant growth. Department of life science, korea research institute of biotechnology and bioscience, journal of environmental science and health. vol: a39, no. 9. Pp 2465–2472.
- Koller, E. (2009). Traitement des pollutions industrielles eau. air. déchets. sols. Boues. :2 ème édition, Edt Dunod, Paris. 569 p.

Kaboré-Ouédraogo, P., Savadogo 2, P., Cheik, A., Savadogo1, A., & Alfred, S. (2010). Etude de la Bio dépollution de sols contaminés par les Hydrocarbures au Burkina Faso, Institut de l'environnement et de Recherche Agricoles (INRA). 10 p.

Ladjal, S. (2012). Activité antimicrobienne des métabolites secondaires des champignons endophytes isolés du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) de la région de M'sila. Mémoire de Magister en Biologie Végétal, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie. Université Ferhat Abbas-Setif, 101 p.

Labiod, F., & Chaïbras, S. (2015). Isolement, identification et activité antibactérienne des moisissures d'un sol forestier à Constantine. Mémoire de Master, Université des frères Mentouri Constantine, Science de la nature et de la vie, 118 p.

Martinelli, I. (1999). Infiltration des eaux de ruissellement pluviale et transfert de polluants associées dans le sol, urbain ; vers une approche globale et pluridisciplinaire. Thèse de doctorat, Institut National des Sciences appliquées de Lyon, 203 p.

Militon, C. (2007). Caractérisation des communautés procaryotiques impliquées dans la bioremédiation d'un sol pollué par des hydrocarbures et développement d'outils d'analyse à haut débit : biopuces ADN. Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal, Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé, 441 p.

Mezergat, M. (2014). Evolution temporelle de la biomasse bactérienne aérobie mésophile dans deux sols pollués par les hydrocarbures. Mémoire de Master, microbiologie appliquée, Université Kadi Merbah, Ouargla, 58 p.

Maamar, A. (2015). Etude de la biodégradation du pétrole brut par le peuplement fongique du port d'Oran. Mémoire de Magister, Université d'Oran, Faculté des sciences de la nature et de la vie, 128 p.

Mezani, S. (2016). Suivi des populations de *Bruchus rufimanus* (Coleoptera : Chrysomelidae) dans les lieux de diapause et dans des parcelles de variétés de fève différentes dans la région de Tizi-Ouzou. Thèse de doctorat, Écologie et biodiversité animale, U.M.M.T.O, 190 p.

Mazziotti, M. (2017). Impacte des exsudats racinaires de *Miscanthus X giganteus* sur les microorganismes impliqués dans la bioremédiation d'un sol contaminé au benzo (a) anthracène "Écotoxicologie, Biodiversité, Écosystème", Université de Lorraine: Id HAL, 302 p.

- Mekerri, k., & Tazeboudjit , A. (2017). Effets des deux espèces de légumineuses (*Vacia faba* et *Phaseolus vulgaris*) sur les proprietes physico-chimiques et microbiologiques de sol contaminé par le petrole brut. Mémoire de Master . U.M.M.T.O. 57 p.
- Martial, P., & Mbogne, F. (2017). Bioremédiation augmentée de sol contaminé aux hydrocarbures lourd par ajout des substrats organique. mémoire de magister, Ecole de technologie supérieure, 109 p.
- Neff, J.M., Stanley, O., Gardiner, W., Stejskal, I. (2000). Effects of weathering on the toxicity of three offshore Australian crude oils and a diesel fuel to marine animals. Environmental toxicology and chemistry. Vol :19, Pp 1809–1821.
- Noumeur, S. (2008). Biodégradation du 2,4-dichlorophénol par le microbiote tellurique de la région de Hamla (Batna). Memoir de magister , Université Mentouri , Constantine,74 p.
- Origo, N., Wicherek, S., & Hotyat, M. (2012). Réhabilitation des sites pollués phytoremédiation. vol: 12 n 2, 12 p.
- Pagotto, C. (1999). Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier. Thèse de doctorat , Université de Poitiers. Ecole des Mines de Nantes , 316 p.
- Perchet, G.O. (2008). Étude de bioremédiation de sédiments contaminés par des composés organiques nitres persistants. Thèse de doctorat, Sciences des Agroressources, institut national polytechnique de Toulouse, 215 p.
- Pimsee, P. (2014). Etude du comportement des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) lors du déversement accidentel d'hydrocarbures en eaux continentales. Thèse de doctorat , Université de Toulouse. 175 p.
- Roger, P., & vencent , J. (2000). Introduction à la bioremediation du sol, des eaux et de l'air. Institut de Recherche pour le développement IRD (ex ORSTOM),Univercité de provence Aix-marseille1, 99 p.
- Razanadrakoto, N. Y. (2005). Optimisation et diffusion de la culture de haricot suivant les techniques agro écologiques dans la région de Mangaroo. Memoire d'ingénieur , Université d'Antananarivo école supérieure des sciences agronomiques, département agriculture,123 p.

Rouidi, S. (2014). Evaluation de la contamination par les hydrocarbures des sédiments superficiels (fluviaux et marins) de la région de Skikda (nord-est algérien) . Thèse de doctorat ,Unniversité Badji Mokhtar ,Algerie , 208 p.

Shirdam, R., Zand, A., Bidhendi, G., & Mahrdadi, N. (2008). Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils with emphasis in the effect of petroleum hydrocarbons in the growth of plant species, article. Vol:89 (Number 1), 89 p.

Soltani, M. (2005). Distribution lipidique et voies métabolique chez quatre bactéries gram négatives hydrocarbonoclaste. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse de doctorat de l'université Paris : Ed HAL, 285 p.

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

Souici, S., & Annou , H. (2014). Evaluation de la phytotoxicité des hydrocarbures pétroliers sur la germination de quelques plantes . Mémoire de Master ,Domaine: Science de la Nature et de la Vie , Unniversité de Ouergla , 89 p.

Sourzat, M. (2015). Evaluation d'un procédé de dépollution des sols contaminés par du plomb, à l'aide de plantes ornementales associées à des microorganismes: Approche de la phytoremédiation . Mémoire de Master en Biologie et technologie du végétal, Université de Rennes,specialité:production et technologie du végétal, 116 p.

Selmoun, M., Benkhebcheche, Dj. (2016). Contribution à l'étude de la biodégradation des hydrocarbures dans les boues de forage par des bactéries productrices de biosurfactants. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine, 77 p.

Técher, D. (2011). Réhabilitation de sols pollués par des HAP grâce aux bactéries associées à la rhizosphère de *Miscanthus x giganteus*. Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine de Metz discipline : toxicologie de l'environnement, 308 p.

Verdin, A., Lounes Hadj seheraoui, A., & Roger , D. (2004). Les agents de bioremediation des sols pollué par les hydrocarbures polycyclique aromatique. Revue francophone d'écologie industrielle. Laboratoire de mycologie/phytopathologie/environnement (M.P.E.) - Calais. Université du Littoral (U.L.C.O.) - Côte d'Opale (N 37), 09 p

Annexe I : Analyses physico-chimiques du sol de l'ITMAS à l'état initial

pH

	SNCNCu	SCNCu
Pot 01	8	7.6
Pot 02	8.05	7.62
Moyenne (x)	8.025	7.61

Conductivité électrique

Moyenne	SNCNCu	SCNCu
Pot 01	1	0.50
Pot 02	0.9	0.50
Moyenne (x)	0.95	0.50

L'humidité

	SNCNCu	SCNCu
Pot 01	7.93	6
Pot 02	7.93	6.33
Moyenne (x)	7.93	6.20

Matière organique

	SNCNCu	SCNCu
Pot 01	0.25	0.40
Pot 02	0.24	0.42
Moyenne (x)	0.24	0.41

Taux de germination pour des trois espèces végétales (Fève, Haricot et Luzerne)

Sol non Contaminé Espèces	La Fève	Le Haricot	La luzerne
Le taux de germination (%)	100	90	70

Analyse physico-chimiques du sol de l'ITMAS après culture

pH

	Fève		Haricot		Luzerne	
Sol NCCu	Pot 01	8.33	Pot 01	8.22	Pot 01	8.70
	Pot 02	8.35	Pot 02	8.23	Pot 02	8.71
Moyenne	X	8.34	X	8.22	X	8.70
Sol CCu	Pot 01	8.09	Pot 01	8.18	Pot 01	8.22
	Pot 02	8.10	Pot 02	8.19	Pot 02	8.23
Moyenne	X	8.09	X	8.18	X	8.22

Conductivité électrique

	Fève		Haricot		Luzerne	
SNCCu	Pot 01	1.10	Pot 01	0.44	Pot 01	0.60
	Pot 02	1.10	Pot 02	0.44	Pot 02	0.60
Moyenne	X	1.10	X	0.44	X	0.60
SCCu	Pot 01	0.52	Pot 01	0.42	Pot 01	0.49
	Pot 02	0.53	Pot 02	0.42	Pot 02	0.49
Moyenne	X	0.52	X	0.42	X	0.49

Humidité

	Fève		Haricot		Luzerne	
Sol NCCu	Pot 01	9.51	Pot 01	9.35	Pot 01	9.55
	Pot 02	9.51	Pot 02	9.40	Pot 02	9.49
Moyenne	X	9.51	X	9.40	X	9.55
Sol CCu	Pot 01	9.10	Pot 01	9.24	Pot 01	9.19
	Pot 02	9.16	Pot 02	9.25	Pot 02	9.10
Moyenne	X	9.20	X	9.24	X	9.20

Matière Organique

	Fève		Haricot		Luzerne	
Sol NCCu	Pot 01	0.18	Pot 01	0.11	Pot 01	0.27
	Pot 02	0.12	Pot 02	0.15	Pot 02	0.21
Moyenne	X	0.15	X	0.13	X	0.24
Sol CCu	Pot 01	0.52	Pot 01	0.60	Pot 01	0.42
	Pot 02	0.49	Pot 02	0.50	Pot 02	0.33
Moyenne	X	0.50	X	0.55	X	0.37

Annexe II : Résultats des analyses statistiques avec le logiciel R

1. Résultats du test ANOVA des paramètres physicochimiques

pH

Analysis of Variance Table

Response: PH

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
sol	3	1.05866	0.35289	15.737	0.0001847 ***
Residuals	12	0.26908	0.02242		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Conductivité électrique

> kruskal.test(CE~sol)

Kruskal-Wallis rank sum test

data: CE by sol

Kruskal-Wallis chi-squared = 5.4519, df = 3, p-value = 0.1415

Humidité

Kruskal-Wallis rank sum test

data: H by Sol

Kruskal-Wallis chi-squared = 13.4712, df = 3, p-value = 0.003721

Matière organique

```
> anova(reg.aov)
Analysis of Variance Table

Response: MO
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Sol         3 0.303277 0.101092  19.914 5.944e-05 ***
Residuals  12 0.060917 0.005076
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

2. Résultats des tests ANOVA de la biomasse végétale

Taux de levée

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

Kruskal-Wallis rank sum test

data:  TL by sol
Kruskal-Wallis chi-squared = 8.4857, df = 1, p-value = 0.003579
```

3. Résultats des tests ANOVA des microorganismes du sol

Bactéries

Facteur sol et espèces

```
Response: nbr
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
sol         3 11242.7  3747.6 37.6166 4.599e-05 ***
espece      2  5950.2  2975.1 29.8628 0.0001947 ***
sol:espece  2  1588.2   794.1  7.9707 0.0124669 *
Residuals   8   797.0    99.6
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> | *
```

Champignon

Facteur sol et espèces

```
> mod.int=lm(nbr~sol*Esp)
> anova(mod.int)
Analysis of Variance Table

Response: nbr
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
sol         3 6209.6 2069.87 57.4963 8.204e-05 ***
Esp         3   49.4   16.47  0.4576  0.72183
sol:Esp     3  574.4  191.47  5.3187  0.03978 *
Residuals   6  216.0   36.00
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

4. Résultats du test de Newman et Keuls des paramètres physico chimiques

pH facteur sol

```
$comparison
NULL

$groups
      trt      means M
1 SNCCu  8.425000  a
2 SCCu   8.168333 ab
3 SNCNCu 8.025000  b
4 SCNCu  7.610000  c

> |
```

Matière organique facteur sol

```
$comparison
NULL

$groups
      trt      means M
1 SCCu   0.4766667  a
2 SCNCu  0.4100000  a
3 SNCNCu 0.2450000  b
4 SNCCu  0.1733333  b
```

5. Résultat du test d'Host hoc

Humidité facteur sol

```
$comparison
NULL

$groups
      trt means M
1 SNCCu  13.5  a
2 SCCu   7.5  b
3 SNCNCu 3.5  c
4 SCNCu  1.5  c
```

Taux de levée

```
$comparison
NULL

$groups
      trt      means M
1 SNCCu 90.00000  a
2 SCCu  58.33333  b
```

6. Résultats du test Newman et Keuls des microorganismes du sol

Bactéries

```

$groups
      trt      means M
1 SCCu    101.3333 a
2 SNCCu    64.0000 b
3 SCNCu    60.0000 b
4 SNCNCu   20.0000 c

```

Champignon

```

$comparison
NULL

```

```

$groups
      trt      means M
1 SCCu    52.00000 a
2 SCNCu    27.50000 b
3 SNCCu    10.33333 c
4 SNCNCu    7.00000 c

```

Annexe III : Analyse microbiologique du sol (Dénombrement des colonies)

Bactéries

Sol non contaminé non cultivé

Dilution	Répétition 1	Répétition 2	Moyenne (X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	307	320	314	indénombrables
10^{-2}	149	110	130	130×10^5
10^{-3}	15	25	20	20×10^3
10^{-4}	5	11	8	8×10^2
10^{-5}	2	7	5	5×10^1
10^{-6}	0	2	2	2

Sol contaminé non cultivé

Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	227	180	104	104×10^5
10^{-2}	70	82	76	76×10^4
10^{-3}	50	70	60	60×10^3
10^{-4}	21	28	25	25×10^2
10^{-5}	8	16	12	12×10^1
10^{-6}	5	4	5	5

Sol non contaminé cultivé Fève

Dilutions	Répétition 1	Répétition 02	Moyenne (X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	349	410	380	indénombrables
10^{-2}	104	220	162	162×10^4
10^{-3}	96	80	88	88×10^3
10^{-4}	16	77	47	47×10^2
10^{-5}	5	54	30	30×10^1
10^{-6}	2	18	10	10

Sol contaminé cultivé Fève

Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	510	596	553	indénombrables
10^{-2}	212	343	278	278×10^4
10^{-3}	100	110	105	105×10^3
10^{-4}	15	25	20	20×10^2
10^{-5}	11	27	19	19×10^1
10^{-6}	9	1	5	5

Sol non contaminé cultivé Haricot

Dilution	Répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	102	113	108	108×10^5
10^{-2}	93	102	98	98×10^4
10^{-3}	85	90	88	88×10^3
10^{-4}	28	34	31	31×10^2
10^{-5}	15	27	21	21×10^1
10^{-6}	6	18	12	12

Sol contaminé cultivé Haricot

Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	530	320	425	Indénombrables
10^{-2}	159	218	189	189×10^4
10^{-3}	103	123	113	113×10^3
10^{-4}	26	121	74	74×10^2
10^{-5}	15	103	59	59×10^1
10^{-6}	4	90	45	45

Sol non contaminé cultivé luzerne

Dilution	Répétition 1	Répétition 2	Nombres de bactéries	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	58	80	69	69×10^5
10^{-2}	50	73	62	62×10^4
10^{-3}	10	23	17	17×10^3
10^{-4}	9	21	15	15×10^2
10^{-5}	7	18	13	13×10^1
10^{-6}	6	15	11	11

Sol contaminé cultivé luzerne

Dilution	répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	108	121	115	115×10^5
10^{-2}	91	94	93	93×10^4
10^{-3}	80	92	86	86×10^3
10^{-4}	5	4	5	5×10^2
10^{-5}	4	1	3	3×10^1
10^{-6}	1	0	1	1

Champignon

Sol non contaminé non cultivé

Dilution	répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	30	35	33	33×10^5
10^{-2}	10	22	16	16×10^4
10^{-3}	1	13	7	7×10^3
10^{-4}	0	7	4	4×10^2
10^{-5}	0	3	2	2×10^1
10^{-6}	0	0	0	0

Sol contaminé non cultivé

Dilution	répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	80	67	74	74×10^5
10^{-2}	34	25	30	30×10^4
10^{-3}	30	25	28	28×10^3
10^{-4}	3	14	9	9×10^2
10^{-5}	5	6	6	6×10^1
10^{-6}	4	2	3	3

Sol non contaminé cultivé Fève

Dilution	répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	104	82	93	93×10^5
10^{-2}	20	22	21	21×10^4
10^{-3}	16	13	15	15×10^3
10^{-4}	10	7	9	9×10^2
10^{-5}	5	3	4	4×10^1
10^{-6}	1	2	2	2

Sol contaminé cultivé Fève

Dilution	répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	80	80	80	80×10^5
10^{-2}	73	70	72	72×10^4
10^{-3}	52	50	51	51×10^3
10^{-4}	9	30	20	20×10^2
10^{-5}	1	29	15	15×10^1
10^{-6}	1	10	6	6

Sol non contaminé cultivé Haricot :

Dilution	répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	48	50	49	49×10^5
10^{-2}	39	43	41	41×10^4
10^{-3}	7	22	15	15×10^3
10^{-4}	6	10	8	8×10^2
10^{-5}	4	2	3	3×10^1
10^{-6}	2	0	1	1

Sol contaminé cultivé Haricot

Dilution	répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	82	70	76	76×10^5
10^{-2}	61	59	60	60×10^4
10^{-3}	45	40	43	43×10^3
10^{-4}	18	14	16	16×10^2
10^{-5}	14	8	11	11×10^1
10^{-6}	7	5	6	6

Sol non contaminé cultivé Luzerne

Dilution	répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	3	7	5	5×10^5
10^{-2}	3	5	4	4×10^4
10^{-3}	2	2	2	2×10^3
10^{-4}	1	2	2	2×10^2
10^{-5}	0	0	0	0
10^{-6}	0	0	0	0

Sol contaminé cultivé Luzerne :

Dilution	répétition 1	Répétition 2	Moyenne(X)	Nombre de colonie par 10g sol sec
10^{-1}	82	70	76	76×10^5
10^{-2}	65	68	67	67×10^4
10^{-3}	60	65	63	63×10^3
10^{-4}	25	4	15	15×10^2
10^{-5}	2	0	1	1×10^1
10^{-6}	0	0	0	0

Annexe IV : Potato Dextrose Agar (PDA)

Pomme de terre200 g

Glucose20 g

Agar20 g

Eau distillée.....compléter jusqu'à 1000 ml –

Laver la pomme de terre non pelée. - Couper en cubes dans 500 ml d'eau distillée. - Porter à ébullition pendant 30 – 45 min. - D'autre part faire fondre l'agar dans 500 ml d'eau distillée. - Écraser la pomme de terre, filtrer puis ajouter le filtrat à la solution d'agar. - Ajouter le glucose. - compléter le volume à 1000 ml. - ajuster. Stériliser par autoclavage à 121° C / 15 min.

Annexe V : Matière organique

La matière organique est calculée à partir de la relation suivante :

$$C\% = (Y-X) \times 0,615 \text{ mg} \times (100/20) \times (100/P) \times (1/1000).$$

Y : La quantité de sel de Mohr utilisée pour titrer le témoin.

X : La quantité de sel de Mohr utilisée pour l'échantillon à doser.

0,615 : Facteur d'équivalence entre le sel de Mohr et le carbone (en mg).1

100/20 : Nous avons utilisé 20 ml à partir de 100 ml.

P : Poids du sol sec (1g).

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

%matière organique = % C x 1,72

Ce facteur (1,724) repose sur l'hypothèse que le contenu en carbone des matières organique est de 58% en moyenne.

Annexe VI : La conductivité électrique

CE= valeur lu X constante de cellule X chiffre de correction de température

Valeur de constante de cellule = 1.9×10^2

Chiffre de correction de température (22°C) = 1.06

Annexe VII : Dénombrement des bactéries et champignons

Selon Pochon et Tardieu (1962), Le calcul du nombre de microorganismes est comme suivi :

Le nombre de colonie /10 g de sol sec = nombre moyen de colonies X |dilutions|X Q.

Q= volume de la solution mère (ml) X quantité de terre séchée (g) / volume de l'inoculum

Annexe VIII : Les normes d'interprétation des résultats

Le pH : Soltner (1981)

Extrêmement acides	Très fortement acides	Très acides	Acides	Faiblement acides	Neutres	Alcalins	Très alcalins
3 - 4,5	4,5 – 5	5 - 5,5	5,5 – 6	6- 6,75	6,75 – 7,25	7,25 – 8,5	8,5

Conductivité électrique

Non salé	Peu salé	Salé	Très salés
0 – 0,6	0,6 – 1,4	1,4 – 2,4	2,4 – 6

Matière organique : Soltner (1981)

Extrêmement faible	Très faible	Faible	moyen	Moyennement élevé	Elevé	Très élevé
< 1	1 - 1.5	1.5 - 2.5	2.5 - 3.5	3.5 - 4.5	4.5 - 5	> 5

Annexe IX : Equipement de laboratoire

Appareils

- Becher de 50 ml ,25 ml.
- Pipette (10 ml, 1 ml).
- Erlenmeyer 500 ml.
- Etuve.
- Tubes à essais.
- Autoclave.
- Balance électrique.
- Compteur de colonies.
- Balance électrique.
- Vortex.
- pH mètre.
- Conducti mètre.
- Tamis à 5 mm Hôte aspirante.
- Pipette pasteur.
- Bec bunsen.
- Micropipette.

Réactifs

- Gélose nutritive.
- Saude (NaOH).
- Acide Sulfurique.
- Pétrole brut.
- Acide chlorhydrique.
- Fluorure de Sodium.
- Sel de Mohr.
- Chlorure de sodium.
- Phénolphtaléine à 2%.
- PDA.

Résumé :

L'un des principaux problèmes environnementaux est la contamination par les hydrocarbures. Ces derniers imposent de sérieuses menaces en affectant constamment l'environnement. La bioremédiation est l'un des moyens biologiques qui permettent d'éliminer et/ou d'atténuer les effets de la contamination par les hydrocarbures en les transformant en formes moins dangereuses ou non dangereuses, tout en limitant l'utilisation excessive de produits chimiques et d'énergie dans les processus de remédiation, en faisant intervenir agents biologiques tels que les microorganismes. L'impact de la pollution des sols par les hydrocarbures sur la distribution des bactéries et champignons ainsi que l'évaluation de leurs pouvoir dégradant le xénobiotique et le degré de résistance des trois espèces de légumineuses (*Medicagosativa*, *Phaseolusvulgaris* et *Vicia faba*) face aux polluants organiques ont fait l'objet de notre travail. L'analyse physicochimiques du sol et le dénombrement de la microflore du sol, montrent que le pétrole brut provoque une diminution du rendement végétal, une augmentation de la matière organique et une diminution du pH et d'humidité, En ce qui concerne la microflore, une augmentation de la biomasse a été constatée et une apparition d'*Aaspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, étant des champignons, connus pour la dégradation du pétrole. La réussite de la méthode biologique de dépollution réside non seulement dans le choix de l'agent biologique mais également dans la maîtrise des conditions physicochimiques du sol qui permettent son bon développement.

Mots clés : pétrole brut, pollution des sols, bioremédiation, phytoremédiation, microorganismes

Abstract

One of the main environmental problems is hydrocarbon contamination resulting from activities related to the petrochemical industry. These impose serious threats by constantly affecting the environment. The bioremediation method is one of biological solution to eliminate or mitigate the effects of hydrocarbon contamination by transforming them to non-hazardous or less hazardous form while limiting of excessive use of energy and chemical in remediation process. Bioremediation is one of the biological means to eliminate and / or mitigate the effects of hydrocarbon contamination by transforming them into less hazardous or non-hazardous forms, while limiting the excessive use of chemicals and chemicals of energy in remediation processes, involving biological agents such as microorganisms. The impact of soil pollution by hydrocarbons on the distribution of bacteria and fungi as well as the evaluation of their xenobiotic degrading power and the degree of resistance of the three species (*Medicago sativa*, *Phaseolus vulgaris* and *Vicia faba*) organic pollutants have been the focus of our work. The physicochemical analysis of the soil and the counting of the soil microflora show that the crude oil causes a decrease of the vegetable yield, an increase of the organic matter and a decrease of the pH and the humidity, as far as the microflora, an increase in biomass has been noted and an appearance of *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, being fungi, known for the degradation of oil.

Key words: crude oil, soil pollution, bioremediation, phytoremediation, microorganisms