

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

N° d'ordre: .....

N° de série: .....



## MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

### Magister

Spécialité Biologie

Option : Eco-pédologie et environnement

Par *Melle.* **BOUAFIANE Mabrouka**

## THEME

***Recherche de la performance de quelques souches  
bactériennes dans la réhabilitation de deux types de sols  
pollués par les hydrocarbures***

Soutenu publiquement le 27/05/2015

### ***Devant le jury :***

Mr OULD ELHADJ M.D.	<i>Professeur</i>	<i>Université de Ouargla</i>	Président
Mme OULD ELHADJ-KHELIL A.	<i>Professeur</i>	<i>Université de Ouargla</i>	Promotrice
Mr CHELOUFI H.	<i>Professeur</i>	<i>Université de Ouargla</i>	Examineur
Mr SAKER M.L.	<i>Professeur</i>	<i>Université de Ouargla</i>	Examineur

# Remerciements

Ce travail de recherche a été mené au laboratoire de Protection des Ecosystèmes en zones Arides et Semi Arides et aux laboratoires pédagogiques de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla.

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant de m'avoir donné le privilège et la chance d'étudier et de suivre le chemin de la science.

Je voudrais adresser toute ma gratitude à mon encadreur Mme OULD ELHADJ-KHELIL Aminata, Professeur au département des sciences biologiques à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université KASDI MERBAH-Ouargla, pour m'avoir donné la chance d'effectuer ce mémoire. Je la remercie pour son encadrement, ses orientations, son aide et ses conseils constructif.

Je tiens à remercier Monsieur OULD ELHADJ M D, Professeur à l'université de Ouargla, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie, également, Monsieur CHELLOUFI H, Professeur à l'université de Ouargla, ainsi que Monsieur SAKER M<sup>ed</sup> L, Professeur à l'université de Ouargla, d'avoir accepté d'examiner ce travail et faire partie de ce jury.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les enseignants , intervenants, ma famille, mes amis et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté à me rencontrer et répondre à mes questions durant mes recherches.

A ma très chère mère ;

A mon père ;

A ma sœur ;

A mes grand parents ;

A toute ma famille et à mes amis ;

Je dédie ce travail

Narimene

# Résumé

---

Le présent travail consiste à une évaluation de la performance des souches bactériennes telluriques sahariennes dans la réhabilitation de sols à textures sableuse ou limoneuse pollués par le pétrole.

A cet effet, les procédés de bioaugmentation, par des souches autochtones sahariennes hydrocarbonoclastes et de biostimulation par une solution nutritive à base d'N, P et K accompagnés d'une aération et humidification journalière des échantillons sont adoptés pour atténuer la pollution.

Les teneurs en carbone organique total (COT), le pH, la biomasse bactérienne et l'activité de la microflore des sols étudiés sont évalués au cours de l'expérimentation.

Une corrélation très significative inversement proportionnelle entre les teneurs en COT et la concentration de la microflore bactérienne est constatée dans les deux sols.

La bioaugmentation a conduit à une diminution des teneurs en COT des deux sols étudiés. Cette diminution est plus prononcée dans le sol sableux où le COT initialement de 3.1% atteint un volume de 1.8%, alors que la biostimulation a abouti à une plus forte dégradation du polluant dans le sol limoneux-fin-argileux où l'en passe de 2.7% à 1.7% à la fin de l'expérimentation.

L'aération et l'humidification journalières des échantillons ont conduit à elles seuls à une réduction de près de 50% de la concentration du pétrole dans les deux sols.

La performance des souches bactériennes étudiées dans la biodégradation des hydrocarbures dans les deux sols rend possible leurs implication dans les procédés de bioremédiation de différents types de sols.

**Mots clés :** Sol, Pollution, Hydrocarbures, Souches bactériennes, Réhabilitation, Bioaugmentation, Biostimulation.

# Abstract

---

The aim of our work is to evaluate the performance of telluric Saharian bacterial strains in the rehabilitation of silty or sandy soils texture polluted by oil.

For this purpose, the bioaugmentation processes, by indigenous Saharian hydrocarbonoclastes strains and biostimulation with a nutrient solution based on N, P and K along with daily aeration and humidification of the samples are adopted to extenuate the pollution.

Total organic carbon contents (TOC), pH, bacterial biomass and the activity of the microflora of soils studied are measured during the experiment.

A highly significant inverse proportional correlation between the TOC contents and the concentration of the bacterial microflora is observed in both soils.

Bioaugmentation has led to a decrease in TOC contents of the two soils studied. This decrease is more pronounced in the sandy soil where TOC initially was 3.1% reached a volume of 1.8%, while the biostimulation has led to a stronger degradation of the pollutant in silt-fine-clay soil which goes from 2.7% to 1.7% at the end of the experiment.

The daily aeration and humidification of the samples led to a reduction of the oil concentration in both soils nearly for 50%.

The Performance of the bacterial strains studied in the biodegradation of hydrocarbons in both soils texture makes possible their implication in bioremediation processes of different soil's types.

**Keywords:** Soil, Pollution Hydrocarbons, Bacterial strains, Rehabilitation, Bioaugmentation, Biostimulation.

## ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم أداء سلالات بكتيرية ترابية معزولة من مناطق صحراوية, في اعادة تأهيل نوعين من التربة ذوات ملمس رملي وغريني, الملوثة بالنفط.

ولهذا قمنا باضافة السلالات البكتيرية القادرة على تفكيك النفط الى عينات من التربة الملوثة باستعمال طريقة الزيادة الحيوية وطريقة التحفيز الحيوي باضافة محلول مغذي يحتوي على N,P ,K الى عينات اخرى من التربة. مع مراعاة الظروف الطبيعية عن طريق التهوية و الرطوبة اليومية للعينات.

من اجل الوصول الى الهدف المقرر قمنا بمتابعة قياس محتوى عينات التربة من الكربون العضوي , درجة الحموضة, الكتلة الحيوية البكتيرية ونشاط الكائنات الدقيقة الموجودة في التربة وذلك اثناء مدة التجربة .

من خلال النتائج لاحظنا وجود علاقة عكسية بين محتوى التربة من الكربون العضوي وتركيز الكتلة الحيوية البكتيرية في كلا النوعين من التربة.

عملية الزيادة الحيوية ادت الى انخفاض ملحوظ في محتوى كلا من الترتين من الكربون العضوي. هذا الانخفاض يظهر اكثر في التربة ذات الملمس الرملي حيث نسبة الكربون في بداية التجربة كانت 3.1 % و في نهاية التجربة 1.8 % . اما بالنسبة لعملية التحفيز فقد اعطت نتائج احسن في التربة ذات الملمس الغريني حيث انخفضت نسبة الكربون العضوي من 2.7% الى 1.7% في نهاية التجربة.

مراعاة التهوية و الرطوبة اليومية لعينات التربة ادت الى انخفاض نسبة النفط الى ما يقارب النصف في كلا الترتين.

كفاءة اداء السلالات البكتيرية المدروسة في التفكيك الحيوي للنفط في كل من التربة الرملية و الغرينية تثبت امكانية تطبيقها في المعالجة البيوجية في انواع مختلفة من التربة .

**الكلمات الدالة :** التربة, التلوث, النفط, سلالات بكتيرية, اعادة تأهيل, الزيادة الحيوية, التحفيز الحيوي.

## LISTE DES FIGURES

Fig. 1-	Triangle de texture de sol .....	07
Fig. 2-	Structure chimique des hydrocarbures pétroliers .....	11
Fig. 3-	Processus influençant le devenir de polluant dans le sol.....	16
Fig. 4-	Localisation des sites d'échantillonnage .....	21
Fig. 5-	Dispositif expérimental de stratégie de bioremédiation adopté.....	26
Fig. 6-	Dispositif expérimental des tests de germination.....	28
Fig. 7-	Echelle et classification granulométrique .....	30
Fig. 8-	Triangle de texture .....	31
Fig. 9-	Evolution du pH du sol sableux au cours d'expérimentation .....	33
Fig.10-	Evolution du pH du sol limoneux- fin-argileux au cours d'expérimentation .....	34
Fig.11-	Evolution de COT dans le sol sableux au cours e l'expérimentation .....	35
Fig.12-	Evolution de COT dans le sol limoneux-fin-argileux au cours d'expérimentation .....	36
Fig.13-	Evolution de la charge bactérienne dans le sol sableux au cours d'expérimentation .....	37
Fig.14-	Evolution de la charge bactérienne dans le sol limoneux-fin-argileux au cours d'expérimentation .....	38
Fig.15-	Evolution de la DBO du sol sableux au cours de l'expérimentation .....	39
Fig.16-	Evolution de la DBO de sol limoneux-fin-argileux au cours de l'expérimentation .....	40
Fig.17-	Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol sableux bioaugmenté .....	42
Fig.18-	Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol sableux biostimulé .....	42
Fig.19-	Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol sableux témoin .....	42
Fig.20-	Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol limoneux-fin-argileux bioaugmenté .....	43
Fig.21-	Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol limoneux-fin-argileux biostimulé .....	43
Fig.22-	Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol limoneux-fin-argileux témoin .....	43

Fig.23-	Taux de germination maximal rapporté pour les graines de <i>M.Sativa</i> semé sur le sol sableux avant et après réhabilitation .....	44
Fig.24-	Taux de germination maximal rapporté pour les graines de <i>M.Sativa</i> semé sur le sol limoneux-fin-argileux avant et après réhabilitation .....	45



## **LISTE DES ABREVIATIONS**

- COT : Carbone organique total.
- DBO : Demande biologique en oxygène.
- pH : Potentiel d'hydrogène.
- BG : Echantillons bioaugmenté par la suspension bactérienne.
- BS : Echantillons bio stimulé par une solution nutritive.
- T : Echantillon témoin.
- S : Sol sableux.
- LFA : Sol limoneux-fin-argileux.
- UFC : Unité formant colonie.
- R : Coefficient de corrélation.
- NC : Sol non contaminé.

## **LISTE DES PHOTOS**

- Photo.1- Photos des échantillons des sols avant la contamination ..... 21
- Photo.2- Photos des échantillons des sols après contamination ..... 22

## **LISTE DES TABLEAUX**

- Tableau.1- Les facteurs environnementaux essentiels pour la bioremédiation..... 18
- Tableau.2- Granulométrie des sols d'Ouargla..... 29
- Tableau.3- Granulométrie des sols de Skikda..... 29
- Tableau.4- Résultats des analyses physico-chimiques des sols..... 32

## Tableaux de matière

RESUME.....	I
ABSTRACT.....	II
المُلخَص.....	III
LISTE DES FIGURES.....	IV
LISTE DES ABREVIATION.....	V
INTRODUCTION .....	1

### **PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

#### **CHAPITRE I : LE SYSTEME SOL**

1. Définition.....	03
2. Les composants du sol .....	03
2.1. Phase liquide .....	03
2.2. Phase gazeuse .....	03
2.3. Phase solide .....	04
2.3.1. Fraction minéral .....	04
2.3.2. Fraction organique.....	05
2.3.3.1. Matière organique vivante.....	05
a. bactérie .....	05
b. champignon.....	06
c. algue.....	06
d. actinomycète .....	06
2.3.3.2. Matière organique morte.....	06
3. Propriétés des sols .....	07
3.1. Texture.....	07
3.2. Structure .....	07
3.3. Porosité.....	08
3.4. Température .....	08
3.5. Potentiel d'hydrogène (pH) .....	08
3.6. Pouvoir adsorbant .....	08
4. Vulnérabilité du sol .....	09

#### **CHAPITRE II : POLLUTION DES SOLS PAR LES COMPOSES PETROLIERS**

1. Le pétrole.....	10
2. Composition chimique du pétrole brut.....	10
2.1. Hydrocarbures saturés .....	11

2.1.1. Alcanes linéaires .....	11
2.1.2. Alcanes ramifiés .....	11
2.1.3. Cycloalcanes .....	12
2.2. Hydrocarbures aromatiques .....	12
2.3. Composés polaires .....	12
2.4. Asphaltènes .....	13
3. Pollution des sols par les composés pétroliers .....	13
4. Effets des propriétés du sol sur le comportement du polluant .....	13
4.1. Effet des constituants minéraux .....	14
4.1.1. Les argiles .....	14
4.1.2. Sable et limon .....	14
4.2. Effet de la texture et de la structure du sol .....	14
4.3. Effet de l'eau du sol .....	15
4.4. Effet des constituants organiques .....	15
5. Devenir des hydrocarbures pétroliers .....	15
5.1. Effet des hydrocarbures sur l'environnement et la santé .....	16

## **CHAPITRE III- BIOREMEDIATION DES SOLS POLLUES PAR LES HYDROCARBURES**

1. Définition .....	17
2. Principe de la bioremédiation .....	17
3. Bioremédiation et biodégradation des hydrocarbures pétroliers .....	17
3.1. Micro-organismes utilisés en bioremediation .....	18
3.2. Facteurs environnementaux essentiels pour la bioremédiation .....	18
3.3. Mécanismes de biodégradation .....	19
3.3.1 Minéralisation .....	19
3.3.2 Co-métabolisme .....	19
3.3.3 Réactions chimiques .....	19
a. Biodégradation aérobie .....	19
b. Biodégradation anaérobie .....	20
4. Méthodes de bioremédiation .....	20
4.1. Bioaugmentation .....	20
4.2. Biostimulation .....	20
4.3. Atténuation naturelle .....	20

## **PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTAL**

### **CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES**

1. Matériel utilisé .....	21
1.1. Souches bactériennes.....	21
1.2.Echantillons de sol .....	21
2. Méthodologie.....	21
2.1. Echantillonnage de sol .....	21
2.2. Contamination expérimental de sol .....	22
2.3. Analyses physico-chimiques de sol .....	22
2.3.1. Analyse granulométrique .....	22
2.3.2. Détermination du carbone organique total par la méthode d'Anne modifiée	23
2.3.3. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH).....	23
2.3.4. Mesure de la conductivité électrique (CE).....	23
2.4.Réactivation des souches bactériennes .....	23
2.5. Préparation de l'inoculum bactérien .....	24
2.6. Préparation de la solution nutritive pour la stimulation des souches .....	24
2.7.Description du dispositif expérimental.....	24
2.8.Chronologie de l'expérimentation .....	25
2.8.1. Suivi de l'évolution du potentiel d'hydrogène.....	25
2.8.2. Suivi de l'évolution de la charge bactérienne.....	25
2.8.3. Suivi de variation des teneurs en carbone organique total.....	25
2.8.4. Suivi de la demande biologique en oxygène (DBO).....	25
3. Tests biologiques des sols après bioremédiation .....	27

### **CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSIONS**

I- Résultats .....	29
1. Caractéristiques des sols étudiés .....	29
1.1. Granulométrie.....	29
1.2.Propriétés physico-chimiques .....	31
2. Evolution des paramètres physico-chimiques .....	32
2.1. Potentiel d'hydrogène .....	32

2.1.1. Sol sableux.....	33
2.1.2. Sol limoneux-fin-argileux .....	34
2.2. Evolution du carbone organique total .....	35
2.2.1. Sol sableux.....	35
2.2.2. Sol limoneux-fin-argileux .....	36
3. Evolution des paramètres biologiques .....	37
3.1. Evolution de la biomasse bactérienne .....	37
3.1.1. Sol sableux.....	37
3.1.2. Sol limoneux-fin-argileux .....	38
3.2. Evolution de la demande biologique d'oxygène .....	39
3.2.1. Sol sableux.....	39
3.2.2. Sol limoneux-fin-argileux .....	40
4. Etudes statistiques .....	41
4.1. Corrélation entre l'évolution de la biomasse bactérienne et le COT dans le sol sableux pour la phase d'intense dégradation.....	42
4.2. Corrélation entre l'évolution de la biomasse bactérienne et le COT dans le sol limoneux-fin-argileux pour la phase d'intense dégradation .....	43
5. Pouvoir germinatif des graines de luzerne dans les sols réhabilités .....	44
5.1.1. Sol sableux .....	44
5.1.2. Sol limoneux-fin-argileux .....	45
II- Discussions .....	46
1. Effet de l'activité bactérienne sur le teneur en carbone organique total dans le sol .....	46
2. Effet de l'activité bactérienne sur le pH du sol .....	47
3. Effet de la texture du sol sur la prolifération bactérienne .....	48
4. Efficacité du procédé de réhabilitation .....	48
CONCLUSION.....	50
BIBLIOGRAPHIE.....	52
ANNEXES .....	

## ***Introduction***

---

# Introduction

---

L'ère des hydrocarbures a sans aucun doute comporte de grands avantages pour le développement industriel et le mode de vie moderne, mais le coût du progrès s'avère actuellement plus élevé que prévu (SVETLANA *et al.*, 2005)

L'impact négatif de l'industrie pétrolière au niveau mondial sur l'environnement, les conditions sociales et la santé publique des populations est devenue, au cours des dernières décennies un des problèmes majeurs de notre société (ABDELY, 2007).

Les conséquences de l'exploitation pétrolière sur l'environnement sont considérables au cours des processus de l'extraction, du raffinage, du transport et de l'utilisation du pétrole. Elles représentent des risques graves sur l'écologie et la santé publique. Tous les milieux naturels (air, eau et sols) sont affectés (KHAN *et al.*, 2013).

Par la contamination des sols par le pétrole brut et ses dérivés, un grand nombre de problèmes peuvent survenir. Les dangers des explosions et les incendies; la migration dans le sol, l'eau et l'air ; les odeurs ; et la perturbation des processus édaphiques comme la rétention d'eau et le cycle des éléments nutritifs. Certains hydrocarbures, en particulier le benzène et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), sont reconnus pour leurs effets cancérigène, mutagène, reprotoxique (CMR) (ALO *et al.*, 2011).

Les mesures de réhabilitation des sols sont alors parfois nécessaires, Les différentes techniques de dépollution peuvent être classées en fonction de la nature des procédés employés, à savoir : les procédés physiques, chimiques, thermiques et biologiques qui consistent à utiliser des micro-organismes, le plus souvent des bactéries (mais aussi des champignons et des végétaux), pour favoriser l'atténuation totale ou partielle des polluants (COLOMBANO *et al.*, 2008).

La bioremédiation est recommandée pour la réhabilitation des sols contaminés, car elle est simple à entretenir, applicable sur de grandes surfaces, rentable et conduit à la destruction complète du polluant (ABDELY, 2007).

L'objectif de notre travail est d'étudier la performance de quelques souches bactériennes utilisées dans des travaux antérieurs, dans la dégradation du polluant dans des conditions édaphiques différentes. L'effet de la texture des sols sur l'activité dépolluante des souches est suivi dans le temps après avoir effectué les analyses physico-chimiques des sols étudiés et l'évaluation du taux de pollution après traitement. A cet effet, deux procédés de bioremédiation ont été appliqués, la bioaugmentation, par des souches bactériennes sahariennes hydrocarbonoclastes et la biostimulation de la microflore indigène par l'ajout des éléments nutritifs et par l'aération et l'humidification quotidienne.

La présente étude comporte deux parties. La première, est consacrée une recherche bibliographique sur le système sol, la contamination par les hydrocarbures pétroliers et la bioremédiation. La seconde regroupe la partie expérimentale.



## ***Partie I: partie bibliographique***

---

## **Chapitre I- Le système sol : Définition, Propriétés et Vulnérabilité**

### **1. Définition**

La Société suisse de pédologie en 1998 a donnée cette définition au sol « *Le sol est la couche externe de la croûte terrestre caractérisée par la présence de nombreux êtres vivants. Il est le siège d'un échange intense de matière et d'énergie entre l'air, l'eau et les roches. Le sol, en tant que partie de l'écosystème terrestre, occupe une position clé dans les cycles globaux des matières.* »

### **2. Composants du sol**

Plusieurs auteurs ont considéré le sol comme un mélange variable de substances solides, gazeuses et liquides formant un système à trois phases.

#### **2.1.Phase liquide du sol**

La phase liquide du sol ou bien la solution du sol occupe une partie plus ou moins importante de la porosité du sol. Elle contient de l'eau et de très nombreuses substances dissoutes organiques et inorganiques et des particules en suspension, ionisées et non. La composition de la solution du sol varie selon celle du sol mais également en fonction du climat, des apports anthropiques (fertilisants, produits de traitement phytosanitaire...) et de l'activité biologique du sol (exsudats racinaires, produits de synthèse et de dégradation microbienne ...) (DUCHAUFOR, 2001).

Une dynamique d'échange existe en permanence entre les ions ou molécules retenus par la phase solide du sol et ceux présents dans la solution du sol. Elle contient également des ions H<sup>+</sup> et OH dont les concentrations déterminent la réaction du sol caractérisée par le pH. (CALVET, 2000).

#### **2.2.Phase gazeuse du sol**

La phase gazeuse est souvent appelée l'atmosphère du sol. Elle occupe 15 à 35 % du volume totale de sol. Les principaux gaz constitutifs sont les mêmes de l'air atmosphérique mais avec une légère différence dans les proportions, cette concentration dépend principalement de deux facteurs, la proximité de l'atmosphère, c'est-à-dire la profondeur dans le sol et l'activité biologique (DUCHAUFOR, 1984, 2001).

Dans un sol bien aéré l'azote constitue 78 à 80% des gaz de l'atmosphère du sol, l'oxygène 18 à 20% et le dioxyde de carbone ; 0,2 à 3%. La quantité de gaz carbonique présente dans le sol est nettement supérieure à celle présente dans l'air atmosphérique 0,03%. Ceci est dû à la respiration des organismes vivants du sol et à la minéralisation de la matière organique (CALVET, 2000).

D'autres molécules gazeuses d'origine anthropique telles que les pesticides ou les HAP peuvent également être détectées dans l'atmosphère du sol (SOULAS *et al.*, 1983 ; ROBERT, 1996).

### **2.3.Phase solide du sol**

Ce compartiment du sol constitué de deux fractions, l'une minérale est la majeure partie (90 à 99% de la masse du sol) et l'autre organique où on peut intégrer les organismes vivants du sol. Ces proportions varient selon le type de sol et les conditions de pédogenèse (CALVET, 2003).

#### **2.3.1. Fraction minérale**

La partie minérale provient de la désagrégation physique et de l'altération chimique de la roche-mère. Les minéraux du sol peuvent être séparés en trois fractions selon la taille des particules : les particules dont le diamètre est inférieur à 2 µm, compris entre 2 et 50 µm et supérieur à 50 µm constituent respectivement les fractions argileuses, limoneuses et sableuses. Les sables et les limons sont relativement inertes contrairement aux argiles où sur elle, plusieurs réactions chimiques importantes se déroulent à cause de sa grande surface spécifique, ses charges de surface et à ses propriétés d'adsorption (KSIEZOPOLSKA, 2002; GOBAT, 2003; QUENEA, 2004 ; ANEEZA, 2009 ; KEDI, 2011 ).

La définition de l' « argile granulométrique » ne reposant que sur la taille des particules, celle-ci ne comprend pas uniquement de l'argile minéralogique mais aussi tous les minéraux de diamètre inférieur à 2µm (GOBAT, 2003).

#### **2.3.2. Fraction organique**

La matière organique du sol est la somme de tous les composants organiques vivants, morts ou en stade de décomposition qu'on trouve dans le sol (DUCHAUFOR, 2001).

La matière organique du sol se compose de deux fractions:

### **2.3.2.1. Matière organique vivante**

La matière organique vivante englobe la faune du sol et la rhizosphère des végétaux d'une part et les microorganismes d'autre part.

Les microorganismes vivants dans le sol sont souvent des bactéries, des champignons, des algues et des actinomycètes, participant d'une manière ou d'une autre à la formation et à l'évolution du sol, en particulier de sa fraction organique. Leur nombre et leur biomasse dans le sol dépassent souvent l'imagination (**PAUL et CLARK, 1996**).

#### **a. Bactéries**

Les bactéries sont des organismes unicellulaires, hétérotrophes, aérobies ou anaérobies. Leur taille peut varier de 0,2 à 10 micron. De tous les micro-organismes du sol, ce sont les plus abondants, leur nombre peut atteindre 100 000 000 bactéries par gramme de sol soit 1 500 kg/ha (**BIDAUD, 1998**).

Les bactéries telluriques sont réparties en 4 groupes fonctionnels principaux : les **décomposeurs**, les **mutualistes** (en relation étroite avec les plantes), les **pathogènes** et les **lithotrophes ou chimioautotrophes** (ne tirent pas leur énergie du carbone mais du fer, de l'azote, du soufre et de l'hydrogène) (**BIDAUD, 1998**).

Le rôle de ces bactéries est très important, elles assurent la décomposition de la matière organique et le recyclage des éléments ; ainsi que la stabilisation des agrégats par la synthèse de polysaccharides. Les bactéries sont parmi les agents pionniers qui rentrent dans la formation des sols par hydrolyse acide des roches. Elles jouent un rôle primordial dans la dégradation de certains pesticides et polluants (**ALBAN, 1999**).

#### **b. Champignons**

Les champignons sont des organismes pluricellulaires, parfois unicellulaires, aérobies. Leur taille est très variable dont le diamètre des hyphes ne dépasse normalement pas quelques microns, mais un seul hyphe peut mesurer plusieurs mètres de long (**SOLTNER, 1992**).

Les champignons fournissent de nombreux services liés à la dynamique de l'eau et au cycle des nutriments. Avec les bactéries, les champignons sont des décomposeurs importants dans la chaîne trophique du sol. Ils transforment des matériaux organiques

difficiles à digérer en composés que d'autres organismes peuvent utiliser (SOLTNER, 1992).

Les hyphes des champignons lient les particules du sol les unes aux autres pour créer des agrégats stables qui augmentent l'infiltration de l'eau et la capacité de rétention en eau du sol. Comme les bactéries, les champignons dégradent certains pesticides et polluants (ANONYME 1, 2008).

**c. Actinomycètes**

Les actinomycètes sont importants en raison surtout de leur rôle dans la fertilisation des sols, synthèse de composés complexes comme les antibiotiques, les vitamines, les stérols, etc (LARPENT, 1989).

**d. Algues**

Les algues sont de petits organismes unicellulaires de quelques  $\mu\text{m}$  de diamètre jusqu'à des formes massives de plusieurs dizaines de m de long (SOLTNER, 1992).

**2.3.2.2.Matière organique morte**

La matière organique morte est représentée par les débris des végétaux et animaux plus ou moins décomposés en humus et les matières humiques qui sont des composés organiques stabilisés (BABA AHMED, 2012 ; GOBAT, 2003 ; DUCHAUFOR, 2001).

**3. Propriétés du sol**

**3.1.Texture:**

Les différents types de sols se caractérisent par leurs textures pédologiques, qui correspondent à la répartition des minéraux par catégorie de grosseur (DUCHAUFOR, 2001). La composition granulométrique s'exprime en pourcentage des trois principales fractions minérales inférieures à 2 mm de diamètre : argile (<0.002mm), limon (de 0.002 à 0.05 mm), sable (de 0.05 à 2 mm) (GOBAT, 2003).

Le triangle des textures indique à quel type appartient le sol considéré.

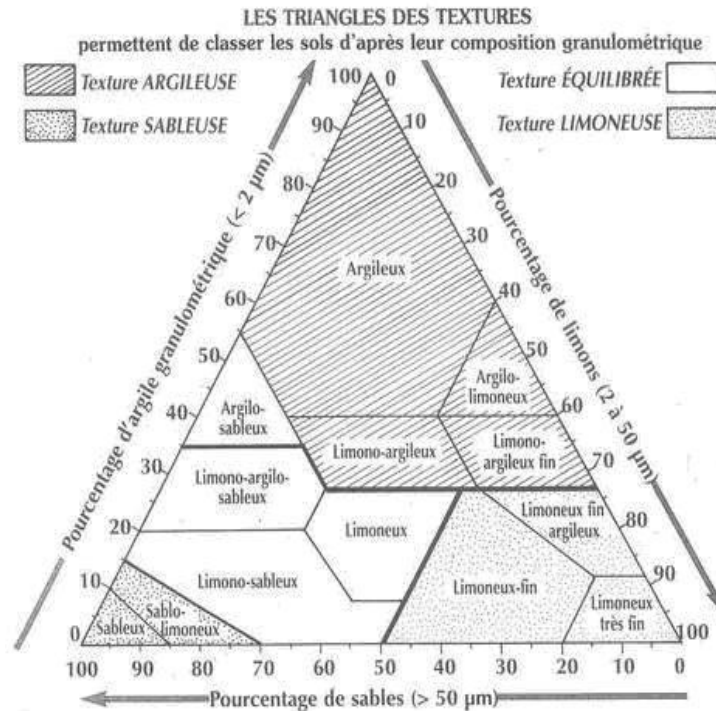


Figure 1- Triangle de texture de sol (GOBAT, 2003).

### 3.2. Structure

La structure est un état du sol déterminé par l'organisation des agrégats de ces éléments minéraux et organiques (CARRILLO-AVILA, 1995). La structure qui résulte de processus biologiques, chimiques et physiques, est donc une propriété variable selon les saisons. Elle dépend directement de la texture, mais aussi de l'état colloïdes, du taux d'humidité ou de matière organique et, dans une large mesure, de l'activité de la faune (GOBAT, 2003).

Les agrégats sont classés en deux types selon leur taille : les macroagrégats (>250 $\mu\text{m}$ ) et les microagrégats (<250 $\mu\text{m}$ ). Les agrégats déterminent les propriétés mécaniques et physiques du sol (mobilité de l'eau, aération, régulation de la température...) et jouent un rôle important dans la germination et la croissance racinaire (HENAQ-VALENCIA, 2008).

### **3.3.Porosité**

Le volume de gaz contenu dans l'unité de volume d'un sol en place correspond, à chaque instant, à la part de la porosité qui n'est pas occupée par l'eau. Lorsque la porosité se dégrade, l'aération diminue, le milieu devient alors réducteur et défavorable à l'activité biologique (**KOLLER, 2009**).

### **3.4.Température**

La température influence la vitesse et l'intensité de nombreux processus biologiques: germination, croissance racinaire, activité de la microflore ; propriétés physique de l'eau et du sol, transferts liquides et gazeux et les processus chimiques dont la dissolution, la précipitation, la sorption et la nitrification. En deçà et au-delà de certains seuils, elle peut même les interdire (**KOLLER, 2009 ; MERMOUD, 2006**).

### **3.5.Potentiel d'hydrogène (pH)**

Le pH du sol affecte les micro-organismes et les enzymes microbiennes, mais aussi la dissociation et la solubilité de nombreuses molécules qui agissent directement sur les micro-organismes (**BIDAUD, 1998**).

### **3.6.Pouvoir adsorbant**

Le sol retient certains éléments fertilisants, et cette propriété constitue son pouvoir adsorbant. Ce sont les colloïdes du sol argile et de l'humus qui possèdent le pouvoir adsorbant le plus élevé, d'où le nom de complexe adsorbant donné au complexe argilo-humique (**KOLLER, 2009**).

## **4. Vulnérabilité du sol**

Un sol résulte d'une longue interaction entre les roches et la biosphère, conditionnée par la présence d'eau et la température (**ATLAS et BARTHA, 1992**).

Le sol est lent à se former, inégalement réparti à la surface de la planète, facilement dégradé et souvent détourné de sa fonction biologique (**DROUET, 2010**).

La dégradation des sols est due à de nombreux facteurs, dont les phénomènes climatiques extrêmes, en particulier la sécheresse, et aux activités humaines qui polluent les sols ou nuisent à leur qualité ou leur utilité (**CAMUZARD, s.d**).

La dégradation du sol peut être considérée comme une accumulation de plusieurs effets provoqués par les polluants anthropologiques sur les diverses transformations physiques, chimiques et biologiques se déroulant dans le sol (**KOLLER, 2009**).

La qualité du sol peut être atteinte principalement par le tassement ou le compactage par les activités agricole et forestière, l'érosion du aux cultures des terres et les inondations et la pollution industriels et agricole (**REULLAN et POSS, sd**).



## **Chapitre II- Pollution des sols par les composés pétroliers**

Dans les zones d'exploitations pétrolières, le sol fait souvent l'objet de contamination par les hydrocarbures.

Le comportement d'un polluant dans un sol dépend à la fois de ses propriétés physico-chimiques et de celles du sol. Dans ce chapitre nous abordons la définition des composés pétroliers, leur composition, leurs devenir dans l'environnement et leurs toxicités.

### **1. Le pétrole**

Le pétrole (Petroleum, du mot grec Petra : roche, et du latin oléum : huile) est une roche liquide, résultent de la décomposition anaérobie de matières organiques après une augmentation de la température et de la pression lors de l'enfouissement au cours des temps géologiques (**PERROT, 1986 in FATTAL, 2008 ; ANONYME 3, 2006**).

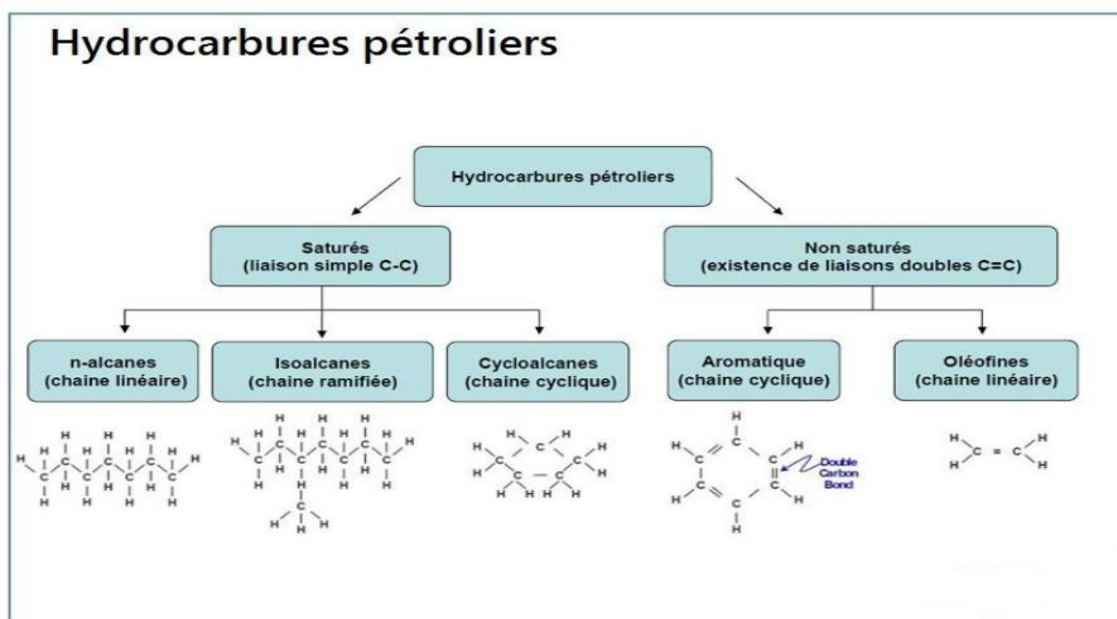
Le pétrole est conventionnellement défini comme un liquide composé principalement de molécules d'hydrocarbures, c'est-à-dire formées uniquement de carbone et d'hydrogène. Il contient aussi, en proportions variables, des molécules lourdes plus complexes comme de l'oxygène, de l'azote et du soufre appelées résines ou asphaltènes (en moyenne 15 %) (**BADO-NILLES, 2008 ; ALVAREZ, 2010; JANCOVICI, 2011**).

### **2. Composition chimique du pétrole brut**

La composition chimique des pétroles bruts varie énormément selon leur origine géographique et géologique (**EYSSAUTIER, 2012**). Les pétroles issus de gisements voisins ont souvent des propriétés proches. Cependant, chaque poche de pétrole a des caractéristiques particulières dues à l'histoire géologique de sa formation (**BADO-NILLES, 2008**).

Les hydrocarbures constituent la fraction la plus importante d'un brut pétrolier, ils représentent entre 65 et 95 % de la plupart des pétroles bruts. Les composés pétroliers peuvent être classés en quatre familles principales qui sont présentes en proportions variables selon l'origine: les hydrocarbures saturés (30 à 70 %), les hydrocarbures

aromatiques et polyaromatiques (20 à 40 %), les composés polaires (5 à 25 %) et les asphaltènes (0 à 10 %) (Figure 02) (SOLTANI, 2004).



**Fig. 2-** Structure chimique des hydrocarbures pétroliers (COLOMBANO *et al*, 2008).

## 2.1. Hydrocarbures saturés

Parmi les hydrocarbures saturés on distingue :

### 2.1.1. Alcane linéaires

Les alcanes linéaires ou les paraffines. Ils sont des chaînes linéaires saturées telles que l'hexane ( $C_6H_{14}$ ) ou l'heptane ( $C_7H_{16}$ ). Constituent une des classes les plus abondantes (10 à 40%) des hydrocarbures dans un brut de pétrole (GUERMOUCHE, 2014).

### 2.1.2. Alcane ramifiés

Les plus abondants dans les alcanes ramifiés sont les iso-alcane (groupement méthyle en position 2). Les autres composés ramifiés, antéiso (groupement méthyle en position 3) ou polyramifiés tels que les isoprénoïdes (exemple: pristane, phytane) sont beaucoup moins nombreux. Ces composés se trouvent dans le pétrole brut à des proportions sensiblement égales à celles des n-alcane (GUERMOUCHE, 2014).

### **2.1.3. Cycloalcanes**

Les cycloalcanes renferment des composés cycliques (à 5 ou 6 atomes de carbone), saturés et le plus souvent substitués. Quelques dérivés polycycliques sont aussi présents et certains d'entre eux tels les stéranes et les triterpanes sont caractéristiques d'un pétrole brut. Cette famille peut représenter entre 30 et 50 % des hydrocarbures totaux d'un pétrole brut (**GUERMOUCHE, 2014**).

### **2.2. Hydrocarbures aromatiques**

Plusieurs familles d'hydrocarbures aromatiques et polyaromatiques dont le nombre de noyaux varie de 2 à 6 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**).

### **2.3. Composés polaires**

Cette fraction correspond à des molécules hétérocycliques, telles que:

- des composés oxygénés: phénols, acides carboxyliques, alcools, aldéhydes, ... ;
- des composés soufrés: mercaptans, sulfures, disulfures, ... ;
- des composés azotés: pyridines, quinoléines, ... .

Les dérivés soufrés sont dans la plupart des cas plus abondants que les composés oxygénés ou azotés (**GUERMOUCHE, 2014**).

### **2.4. Asphaltènes**

La fraction lourde des pétroles bruts est constituée par les asphaltènes qui forment une partie importante des résidus de distillation du pétrole en raffinage. Ce sont des composés constitués des molécules polycycliques à haut poids moléculaire contenant des atomes de carbone, d'hydrogène, d'oxygène, de soufre et d'azote (**TISSOT, 1984**).

## **3. Pollution des sols par les composés pétroliers**

Le sol est une structure, une organisation répondant à un certain nombre de fonctions indispensables à la survie des écosystèmes terrestres en général et à celle des sociétés humaines en particulier (**CAMUZARD, s.d**). Ses fonctions sont à la fois économiques, sociales et environnementales. Le sol permet la production de la biomasse, il offre l'espace nécessaire à l'habitat et aux diverses activités humaine, et il constitue une source de matériaux bruts (eau, ressources et combustibles fossiles, minerais...) (**DROUET, 2010**).

La contamination du sol par les hydrocarbures occupe une position particulière en raison de la toxicité de certains d'entre eux (**BATTAZ, 2009**). Du fait de l'utilisation massive des produits pétroliers, les hydrocarbures constituent les polluants organiques les plus fréquents des sols (**VANDECASTEELE, 2005**).

L'apparition d'une pollution résulte le plus souvent d'accidents industriels, de dépôts ou du transport de matières dangereuses (**RISER-ROBERTS, 1998**). L'exploitation des gisements peut provoquer des déversements lors de ces trois principales opérations : forage, production et transport par oléoducs souterrains (**BATTAZ, 2009**).

#### **4. Effet des propriétés du sol sur le comportement du polluant**

Le comportement d'un sol face à une infiltration de polluants sera affecté par ces propriétés. Il sera donc nécessaire de caractériser le sol pour prévoir le comportement des polluants et les conséquences possibles de la pollution (**LEMIERE et al., 2001**).

##### **4.1. Effet des constituants minéraux**

###### **4.1.1. Les argiles**

Les principales caractéristiques des argiles résident dans leurs propriétés colloïdales, leur capacité de rétention d'eau et leur grande surface spécifique qui leur confèrent de fortes capacités d'échange, donc d'adsorption. Les argiles entrent dans la composition de nombreux complexes argilo-humiques, favorisant la rétention des hydrocarbures à long terme (**AMELLAL, 2003**).

###### **4.1.2. Les sables et limons**

Les sables et les limons représentent la fraction minérale grossière, généralement constituée de quartz, de feldspaths et de micas. Bien que les sables et les limons grossiers ont un rôle fondamental dans l'édification de la structure du sol, ces deux fractions minérales ne semblent pas intervenir de façon importante dans les phénomènes d'adsorption des hydrocarbures dans le sol (**BAYARD, 1997 ; JAYR et al., 2000**).

Généralement la composition chimico-minéralogique du sol et notamment la richesse en minéraux argileux, et la teneur en matière organique, influent sur l'aptitude du sol à retenir momentanément ou à fixer les polluants, sur la disponibilité des colloïdes et sur les réactions biochimique menant à la dégradation de contaminant (**LEMIERE et al., 2001**).

#### **4.2. Effet de la texture et structure du sol**

Les propriétés adsorbantes des sols dépendent de leur texture et leur structure. Ces caractéristiques déterminent la porosité et la perméabilité des sols, deux facteurs qui influencent l'adsorption et la mobilité des polluants organiques (**AMELLAL, 2003**).

Le degré de pénétration des hydrocarbures est fonction de la texture et de la structure du sol, comme de la quantité et de la nature du produit déversé. Un produit de faible viscosité pénètre rapidement dans un sol sec et poreux et s'étale donc peu à la surface. Inversement, sur un sol saturé d'eau de type argileux, le produit s'étale largement d'autant plus que sa viscosité est relativement élevée (**BERGUE, 1986**).

#### **4.3. Effet de l'eau du sol**

L'eau pourra entrer en compétition avec les molécules organiques pour l'adsorption sur les matériaux solides du sol entraînant ainsi une baisse de l'adsorption des polluants lorsque le taux d'humidité du sol augmente (**CHIOU et SHOUP., 1985**).

#### **4.4. Effet des constituants organique du sol**

La présence des matières organiques dissoutes telles que les substances humiques et fulviques modifie de façon significative le comportement des molécules organiques dans les milieux aqueux et dans le sol (**BARRIUSO et al., 1992**). Elle

augmente la solubilité en phase aqueuse des polluants organiques et diminue leur adsorption sur les phases solides, le degré d'influence de la matière organique sur les polluants dépend bien évidemment de la nature et des caractéristiques chimiques de ces derniers (MC-CARTHY et JIMENEZ, 1985 in AMELLAL, 2003).

## **5. Devenir des hydrocarbures pétroliers**

Différentes altérations biotiques et abiotiques peut subir un hydrocarbure déversé dans l'environnement, par des processus chimique physique et biologique qui vont le déplacer, le transformer ou bien l'éliminer (MAES *et al*, sd).

Un certain nombre de processus influencent le comportement et la migration des contaminants dans les sols (figure 03), il s'agit essentiellement de :

- **Réactions d'échange** (volatilisation, adsorption-désorption, complexation, dissolution-précipitation...) entre les phases solide (constituants minéraux et organiques du sol), liquide (eau interstitielle) et gazeuse (porosité non remplie d'eau) du sol ;
- **Réactions de dégradation** : photolyse, hydrolyse chimique, biodégradation ;
- **Phénomènes de transfert** des polluants et de leurs produits de dégradation vers l'atmosphère par volatilisation, vers les eaux de surface par ruissellement, vers les eaux souterraines par lixiviation ou écoulement gravitaire , et vers les plantes par absorption racinaire (MAES *et al.*, sd ; LEMIERE *et al.*, 2001).

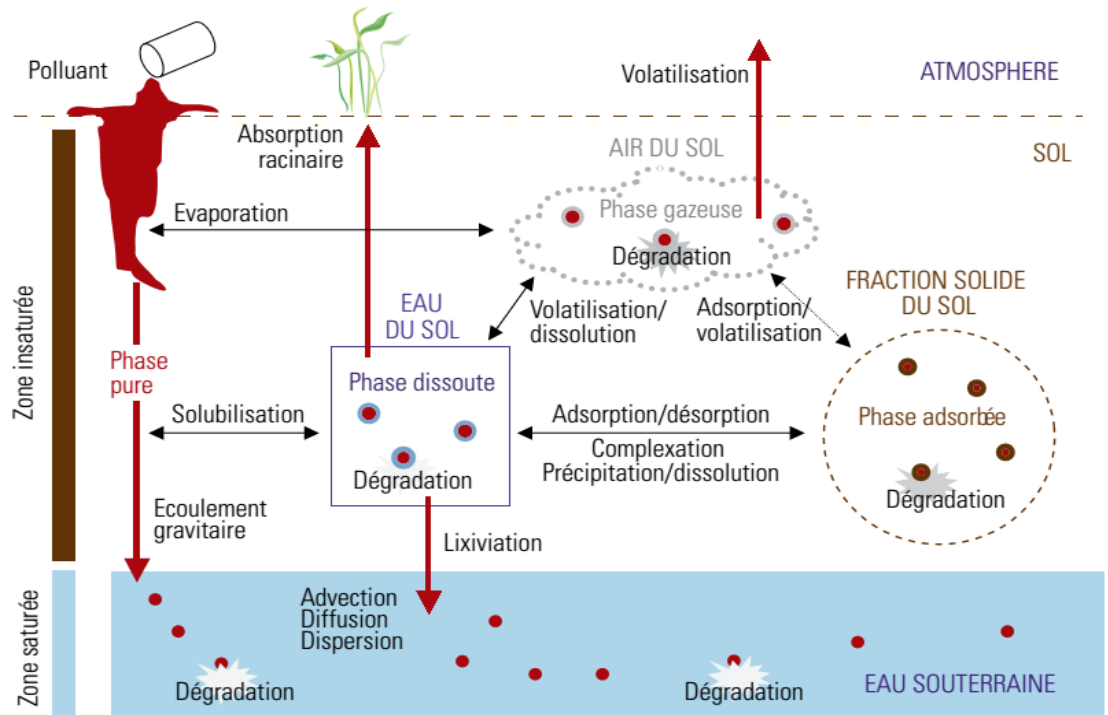


Figure 3- Processus influençant le devenir de polluant dans le sol

(MAES *et al*, sd).

### 5.1. Effet des hydrocarbures sur l'environnement et la santé

L'un des problèmes majeurs et continus de l'environnement est la contamination par les hydrocarbures résultant des activités liées aux produits pétroliers et du pétrole. La contamination des sols par des hydrocarbures provoque des dégâts des systèmes locaux, puisque l'accumulation de polluants dans les animaux et les tissus de des plantes peut causer la mort des êtres vivants ou des mutations (JAMES *et* KARUNA ; 2012).

Les hydrocarbures sont classés parmi les produits chimiques organiques dangereux dont certains de leurs effets toxiques sont reconnu comme fortement cancérigènes, génotoxiques, immunotoxiques, mutagéniques ou tétatogénique. Ils représentent une menace pour la santé publique (ERIKSSON *et al*, 2003).

## **Chapitre III- La bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures pétroliers**

Les techniques biologiques de dépollution ont été abondamment utilisées depuis long temps dans les systèmes clos tels que les bassins de décantation, les systèmes de dépollution aérobie des eaux usées ou les digesteurs anaérobies (**ROGER, 2000**).

### **1. Définition**

Le traitement biologique ou traitement par bioremédiation permettent la réhabilitation des sites contaminés par l'intermédiaire des microorganismes et des végétaux (**Anonyme 3, 2006**) ; pour réduire ou éliminer les risques environnementaux résultant de l'accumulation de produits chimiques toxiques et d'autres déchets dangereux (**GIBSON et SAYLER, 1992**).

### **2. Principe de la bioremédiation**

La bioremédiation est une technique respectueuse de l'environnement utilisée pour restaurer les sols et les eaux à leur état d'origine, on utilisant des microorganismes qui peuvent être indigènes à la zone contaminée, ou ils peuvent être isolés de l'extérieur et portés au site contaminé. Les contaminants sont transformés par les organismes vivants par des réactions qui ont lieu dans le cadre de leurs processus métaboliques (**JAMES et KARUNA ; 2012**).

### **3. Bioremédiation et Biodégradation des hydrocarbures pétroliers**

Le principe de la biodégradation se réfère au processus de dégradation des composés à base de carbone effectué par des microorganismes. Cette dégradation s'effectue en présence ou en l'absence d'oxygène. En présence d'oxygène (milieu aérobie), elle consiste en la minéralisation des composés carbonés, principalement les hydrocarbures, ultimement en dioxyde de carbone, eau, composés inorganiques et protéines cellulaires. En condition anaérobie, soit en l'absence d'oxygène, l'activité métabolique des microorganismes adaptés produit des substances organiques simples non complètement oxydées telles que des acides



organiques et d'autres composés comme le méthane et l'hydrogène gazeux (SNEZANA *et al.*, 2013).

### 3.1. Micro-organismes utilisés en bioremédiation

Parmi les bactéries aérobies reconnues pour leur pouvoir de dégradation, nous pouvons citer celles appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Sphingomonas* et *Mycobacterium*. Elles peuvent dégrader les pesticides, les hydrocarbures, les alcanes et les composés polyaromatiques. Elles utilisent Souvent le polluant comme source de carbone et d'énergie (ABDELY, 2007).

### 3.2. Facteurs environnementaux essentiels pour la bioremédiation

Le pétrole brut peut se dégrader dans des conditions appropriées, le succès du procédé de bioremédiation dépend de la capacité à déterminer les conditions et les établir dans l'environnement contaminé. Les facteurs environnementaux essentiels pour la bioremédiation sont cités dans le tableau suivant (JAMES *et* KARUNA ; 2012).

**Tableau 01- Les facteurs environnementaux essentiels pour la bioremédiation (JAMES *et* KARUNA ; 2012).**

Facteur	Condition optimal
Population microbienne	Apte à biodégrader les contaminants
Oxygène	Suffisamment pour soutenir la biodégradation aérobie (environ 2% d'oxygène dans la phase gazeuse ou 0,4 mg / litre dans l'eau du sol)
L'eau	L'humidité du sol doit être de 50 à 70% de la capacité de rétention d'eau du sol
Nutriments	Azote, phosphore, soufre et d'autres éléments nutritifs pour soutenir une bonne croissance microbienne
Température	Températures doit être comprises entre (0-40C) .
pH	La meilleure gamme est de 6,5 à 7,5

### **3.3. Mécanismes de biodégradation**

La biodégradation est un processus naturel très important dans la dépollution de l'environnement. Les microorganismes et en particulier les bactéries sont les responsables de ce processus, (VOGEL *et al.*, 2001). La biodégradation implique des transformations chimiques induites par les micro-organismes pour satisfaire les besoins nutritionnels et les exigences énergétiques (STONER, 1993). Les hydrocarbures peuvent être métabolisés par les microorganismes par l'un de ces voies :

#### **3.3.1. La minéralisation**

La minéralisation est la biodégradation complète des matières organiques à produits inorganiques. Et se produit souvent à travers les activités combinées de consortiums microbiens plutôt que par un seul micro-organisme (SHELTON *et* TIEDJE, 1984).

#### **3.3.2. Co-métabolisme**

Cométabolisme est le processus par lequel un contaminant est fortuitement dégradé par une enzyme ou un cofacteur produit au cours du métabolisme microbien d'un autre composé. Typiquement, il n'y a aucun avantage apparent au micro-organisme impliqué (HAZEN, 2010).

#### **3.3.3. Réaction chimique**

La biodégradation des composés pétroliers peut se produire dans des conditions aérobic (Oxydation) et anaérobic (anoxie) (SNEZANA *et al.*, 2013).

##### **a- La biodégradation aérobic**

La biodégradation aérobic implique l'utilisation de l'oxygène moléculaire (O<sub>2</sub>), où l'oxygène (l'accepteur terminal d'électrons) reçoit des électrons transférés d'un contaminant organique, selon la réaction suivante :



Ainsi, le substrat organique est oxydé, et l'oxygène est réduit. Dans ce cas, le substrat organique sert de source d'énergie (électrons) et de source de carbone utilisée pour construire des cellules microbiennes (biomasse) (SIMS, 1990).

#### **b- La biodégradation anaérobie**

En absence d'oxygène, les bactéries métabolisent les HAP par voie anaérobie, mais beaucoup plus lentement qu'en aérobiose. Les microorganismes utilisent majoritairement le nitrate et le sulfate comme accepteurs d'électrons et, dans une moindre mesure, le fer ferrique, le chlorate, ou le CO<sub>2</sub> (**GIBSON et HARWOOD, 2002 ; MECKENSTOCK et al., 2004**).

#### **4. Méthodes de bioremédiation**

Les principales technologies utilisées dans la bioremédiation sont les suivantes:

##### **4.1. bioaugmentation**

La bioaugmentation consiste à introduire des cultures microbiennes spécialisées à la surface du milieu contaminé dans l'objectif d'augmenter la biodégradation des contaminants organiques. Ils sont généralement cultivés séparément dans des conditions bien définies. Ces micro-organismes sont sélectionnés sur la base de leur aptitude à dégrader les composés organiques présents dans le site à dépolluer (**ABDELY, 2006 ; ALVAREZ et ILLMAN, 2006**).

##### **4.2. Biostimulation**

La biostimulation est l'une des méthodes les plus matures de la bioremédiation. Cette technologie consiste à stimuler l'activité des populations microbiennes indigènes (présentes dans le sol) par apport de nutriments et par ajustement des conditions du milieu (potentiel d'oxydo-réduction, humidité) (**ABDELY ; 2007**).

##### **4.3. Atténuation naturelle**

C'est tout simplement la biodégradation naturelle des polluants par les microorganismes présents dans le sol ou la nappe (**HANNA, 2004**). Cette technique part du principe que la microflore indigène d'un site pollué a su s'adapter à la pollution considérée et peut utiliser les polluants comme nutriments. La population bactérienne capable d'utiliser ces polluants prolifère et peut alors devenir dominante (**MULLIGAN et YONG 2004**).

## ***Partie II: partie expérimentale***

---

## **I. Matériel et méthodes**

Le matériel biologique, le dispositif expérimental et les différentes méthodes d'analyses physico-chimiques et biologiques utilisées dans ce travail sont présentés dans ce chapitre.

### **1. Matériel utilisé**

#### **1.1.Souches bactériennes**

Pour la réalisation de notre expérimentation, 17 souches ont été utilisées. Elles sont isolées à partir des échantillons des sols pollués ou non provenant de la région de Ouargla (**BOUDERHEM, 2011**).

#### **1.2. Echantillons de sol**

L'activité hydrocarbonoclaste des souches étudiées est évaluée sur deux types de sols de textures différentes prélevés dans deux sites d'échantillonnage, le premier au niveau de l'exploitation de l'université de Ouargla et le second de la région de Skikda (Collo) (**Fig.4**).

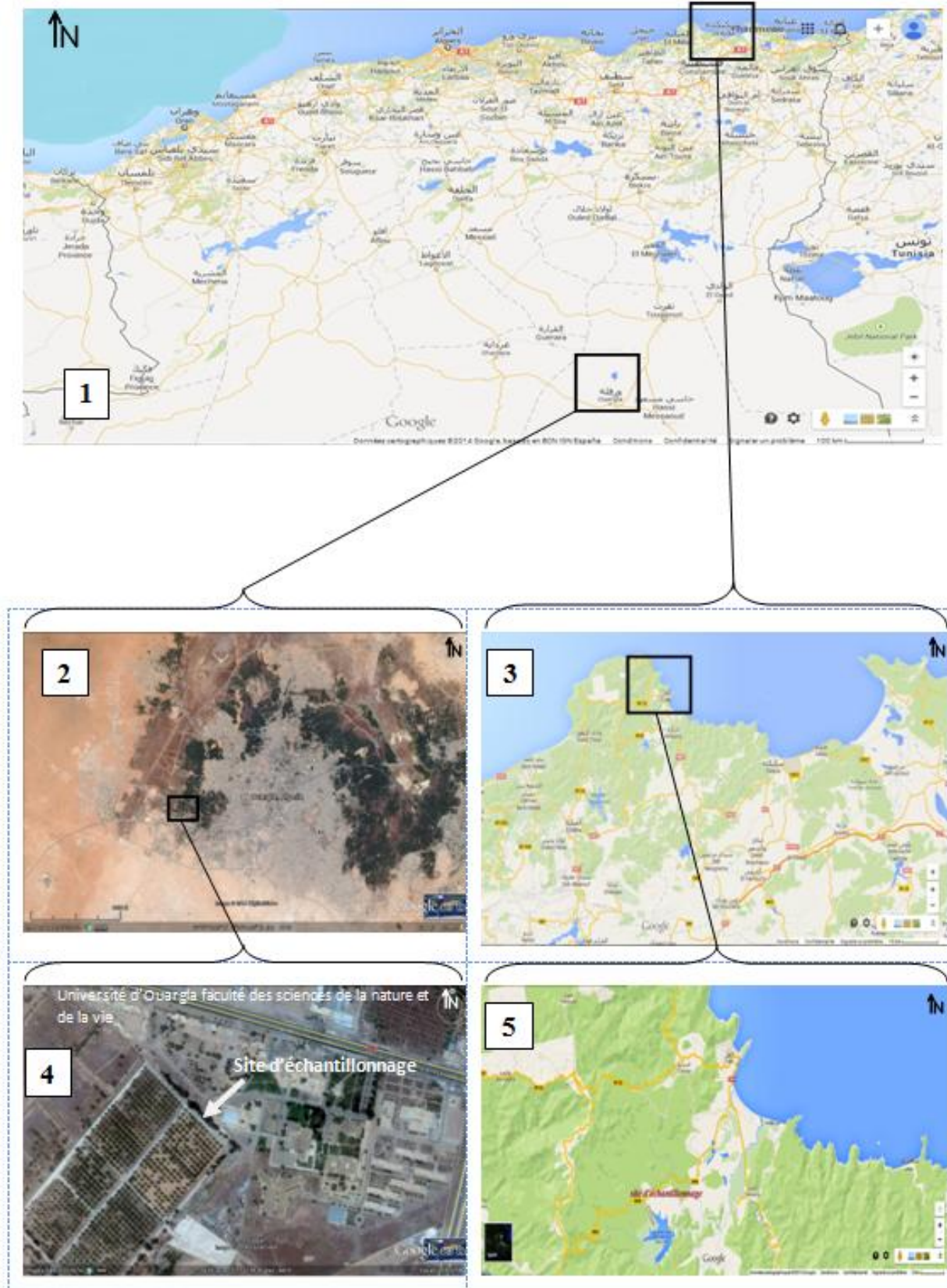
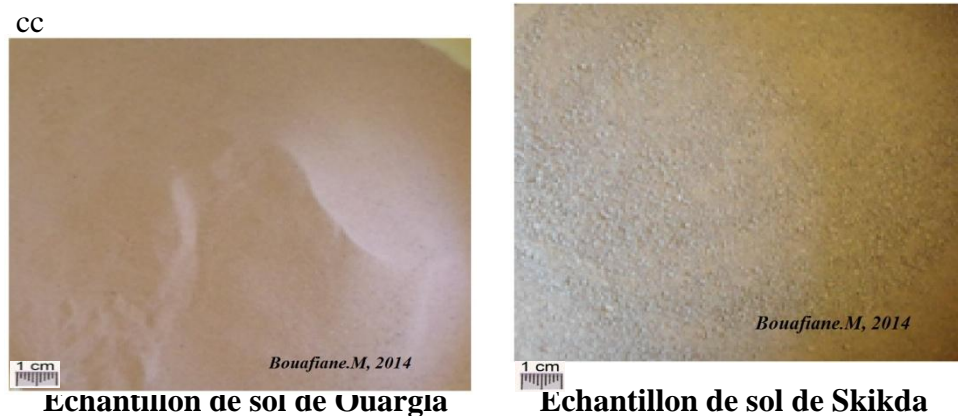


Fig. 4- Localisation des sites d'échantillonnage (image Google maps 2014).

## 2. Méthodologie

### 2.1. Echantillonnage de sol

L'échantillonnage des deux sols effectués au mois de Mars 2014, les échantillons de sol ont été prélevés après décapage de la couche superficielle de sol qui contient plus des racines et débris des végétaux. Ils sont séchés à l'ombre puis sont broyés et tamisés à 2mm pour éliminer les éléments grossiers et les débris organiques (**Photo.1**).



**Photo 1-** Les échantillons de sol avant contamination.

### 2.2. Contamination expérimental de sol

Les échantillons de sols ont été volontairement pollués avec du pétrole brut. Le choix de la quantité de pétrole s'est basé sur le point de saturation du sol sableux. La même quantité ayant permis cette saturation est appliquée au sol provenant du site de Skikda. Le rapport sol/pétrole retenue était alors 0.17/1 (L/kg) (**Photo. 2**).



**Photo 2-** Les échantillons de sol après contamination.

Les échantillons ainsi contaminés sont laissés pendant une semaine à l'ombre et couverts pour l'ombre pour minimiser la perte des composés pétroliers par volatilisation et par photoxydation et pour que le pétrole soit adsorbé dans les particules du sol (**HUNG *et al.*, 2004**).

### **2.3. Analyses physico-chimique de sol**

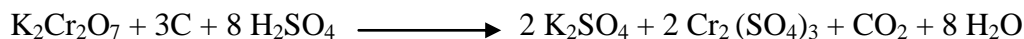
#### **2.3.1. Analyse granulométrique**

L'analyse granulométrique permet de déterminer et d'observer les différents diamètres de grains qui constituent un échantillon de sol. Pour l'échantillon de sol provenant de site 1 (exploitation de l'université de Ouargla), l'analyse granulométrique est effectuée par la méthode de tamisage décrite par la norme **NF P 18-560**, qui consiste à séparer à l'aide d'une série des tamis les grains de l'échantillon de sable selon leur diamètre. Les diamètres des tamis utilisés sont 1mm ; 0,5mm ; 0,2mm ; 0,1mm et 0,05mm.

L'analyse granulométrique de l'échantillon de sol fin (sol 2 de Skikda) a été effectuée selon le protocole standardisé des fractionnements granulométriques en utilisant la méthode de la pipette de Robinson (**Norme AFNOR X31-107, 2003**), en utilisant des échantillons de terre fine séchée à l'air libre, après décarbonatation et destruction de la matière organique puis la dispersion des particules par l'examétaphosphate de sodium et prélèvement à l'aide de pipette de Robinson, en appliquant la loi de Stokes (**AUBERT, 1978**).

#### **2.3.2. Détermination du carbone organique total par la méthode d'Anne modifiée**

La méthode utilisée est dérivée de celle décrite par Anne en 1945. Elle repose sur le fait que la matière organique du sol peut être oxydée par un traitement avec un mélange de  $K_2Cr_2O_7$  et de  $H_2SO_4$  suivant la réaction suivante :



Le chrome ( $Cr^{+6}$ ) est réduit par le carbone organique en chrome ( $Cr^{+3}$ ). On admet que la quantité d'ions chromique ( $Cr^{+3}$ ) formés est proportionnelle à la quantité de carbone organique contenu dans la prise d'essai. Les ions chromiques ( $Cr^{+3}$ ) sont dosés par spectrophotomètre (**MATHIEU et PIELTAIN, 2009**).



### **2.3.3. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)**

Le pH par définition, est l'unité de mesure de la concentration en ions hydrogènes, permettant d'évaluer l'acidité ou la basicité d'un milieu. Le pH influence la disponibilité des éléments minéraux dans le sol, leur toxicité éventuelle et l'activité microbologique du sol.

Nous avons adopté le protocole décrit dans la norme **AFNOR X 31-103 (AFNOR, 1994)** on mesurant le pH d'une suspension de sol dans l'eau à 1/5 (rapport masse/volume) , après 1 heure d'agitation puis décantation à l'aide d'un pH mètre de type Inolab MLM .

### **2.3.4. Mesure de la conductivité électrique (CE)**

La mesure de la conductivité électrique a été effectuée dans l'eau, le rapport sol-eau étant de 1/5.

## **2.4. Réactivation des souches bactériennes**

A l'aide d'une anse en platine, un échantillon de chaque souche et on ensemence dans des boîtes de Pétri coulé préalablement par un milieu de culture gélose nutritif ordinaire (voir l'annexe), et incubées à 30°C pendant 48h.

## **2.5. Préparation de l'inoculum bactérien**

A partir des souches bactériennes réactivées on a effectué des précultures en Bouillon nutritif dans des tubes à essais stériles, les précultures ont été incubées à 30 °C pendant 24h avec agitation de 90 tours/minute.

Après l'incubation un trouble dans les tubes se paraitre, qui se traduit par l'augmentation de la biomasse bactérienne après multiplications. Lors des essais, ces précultures servent à la préparation de suspension bactérienne utilisée par la suite pour bioaugmenter la microflore indigène du sol.

## **2.6.Préparation de la solution nutritive pour la stimulation des souches**

Les hydrocarbures ne sont qu'une source de carbone pour les microorganismes. L'azote et le phosphore sont des facteurs limitant la biodégradation des hydrocarbures dans les sols (WALWORTH *et al.*, 2001; MOHN et STEWART, 2000).

L'engrais agricole à base des éléments azoté, phosphoré, potassique (N, P, K) comme stimulant à l'activité bactérienne dans notre essai de bioremédiation.

Nous avons préparé une solution nutritif d'N, P, K avec une concentration 1 g N P K, / 1L d'eau distillé.

## **2.7.Description de dispositif expérimental**

Pour effectuer la bioremédiation des échantillons pollués artificiellement, les procédés de bioaugmentation et la biostimulation sont adoptés.

Dans chaque bac en plastique de dimensions (25x15x10 cm) sont déposés 1kg de sol auquel ont ajoutés 30 mL de suspension bactériens, les bacs biostimulé sont arrosés par la solution nutritive d'N P K. l'expérimentation est menée pendant huit semaines. L'humidité des bacs est maintenue par l'apport quotidien d'une quantité d'eau distillée par pulvérisation et aéré. Chaque expérimentation a été faite en triplicats. Les échantillons à analyser sont prélevés une fois par semaine.

## **2.8.Chronologie de l'expérimentation**

Quatre paramètres biologiques et physico-chimiques sont suivis durant les huit semaines de l'expérimentation.

### **2.8.1. Suivi de l'évolution du potentiel d'hydrogène (pH)**

L'augmentation de l'activité bactérienne s'accouple généralement avec une baisse de pH du sol, c'est pour que le pH de l'extrait de sol est mesuré dans tous les bacs biostimulé, bioaugmenté et les témoins hebdomadairement durant les deux mois de l'expérimentation.

### **2.8.2. Suivi de l'évolution de la charge bactérienne**

L'estimation de la croissance bactérienne est basée sur deux critères, la masse cellulaire et le nombre de bactéries, qui augmentent dans des proportions variables au cours de la croissance. La masse cellulaire est mesurée selon la densité optique du milieu en utilisant un spectrophotomètre à 680nm.

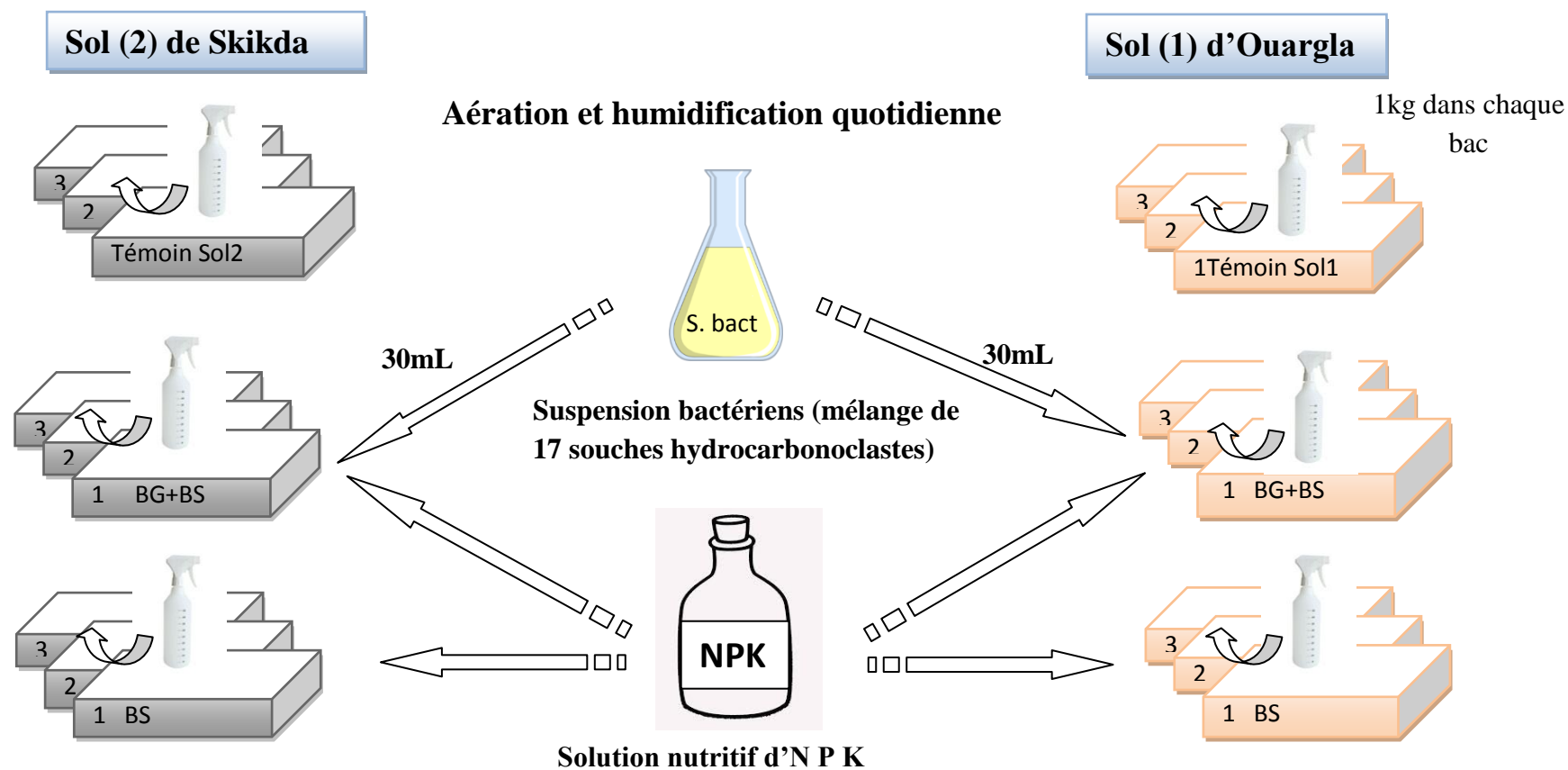
### **2.8.3. Suivi de la variation des teneurs en carbone organique total (COT)**


Le suivi de l'évolution de la quantité de COT est utilisé afin d'évaluer la vitesse de dégradation des hydrocarbures pétroliers constitué également de carbone dans le sol au cours de la période de traitement.

### **2.8.4. Suivi de la demande biologique en oxygène (DBO)**

La DBO est une expression pour indiquer la quantité d'oxygène qui est utilisée pour la dégradation de matières organiques décomposables par les processus biochimiques induits par les microorganismes.

Les extraits d'échantillons de sols sont mis en incubation, les micro-organismes (dont les bactéries) dans le sol. Réalisent l'oxydation à 20 C. Elle peut être mesurée sur 5 jours d'incubation (DBO5). La mesure de DBO5 se fait par la norme NF-T-90-103.



**BG** : échantillons bioaugmenté par la suspension bactérien ; **BS** : échantillons bio stimulé par une solution nutritif d'NPK ;  : Aération et humidification quotidienne pendant 8 semaines ; des échantillons a analysé sont prélevés chaque semaine.

**Fig. 4-** Dispositif expérimental de stratégie de bioremédiation adopté.

## **2.9. Tests biologique des sols après bioremédiation**

Pour évaluer la procédure de bioremédiation adoptée, des tests de germination sont réalisés sur les échantillons des deux sols avant contamination, après contamination et après 8 semaines de traitements.

Nous avons utilisé les graines de la luzerne (*Medicago sativa*) une plante herbacée fourragère de la famille des fabacées caractérisée par leur rapidité de germination (elle germe généralement après 48 heures).

Dans des boites Pétrie, contenant 40g de sols provenant de chaque bac (témoin, bioaugmenté, biostimulé, les sols pollués avant traitement et sols non pollués), 10 graines de luzerne sont semis et irrigué quotidiennement pendant 10 jours. Le nombre des graines germées dans chaque boite est compté tous les jours (Fig.5).

Le taux de germination est ainsi évalué pour les tous les sols.

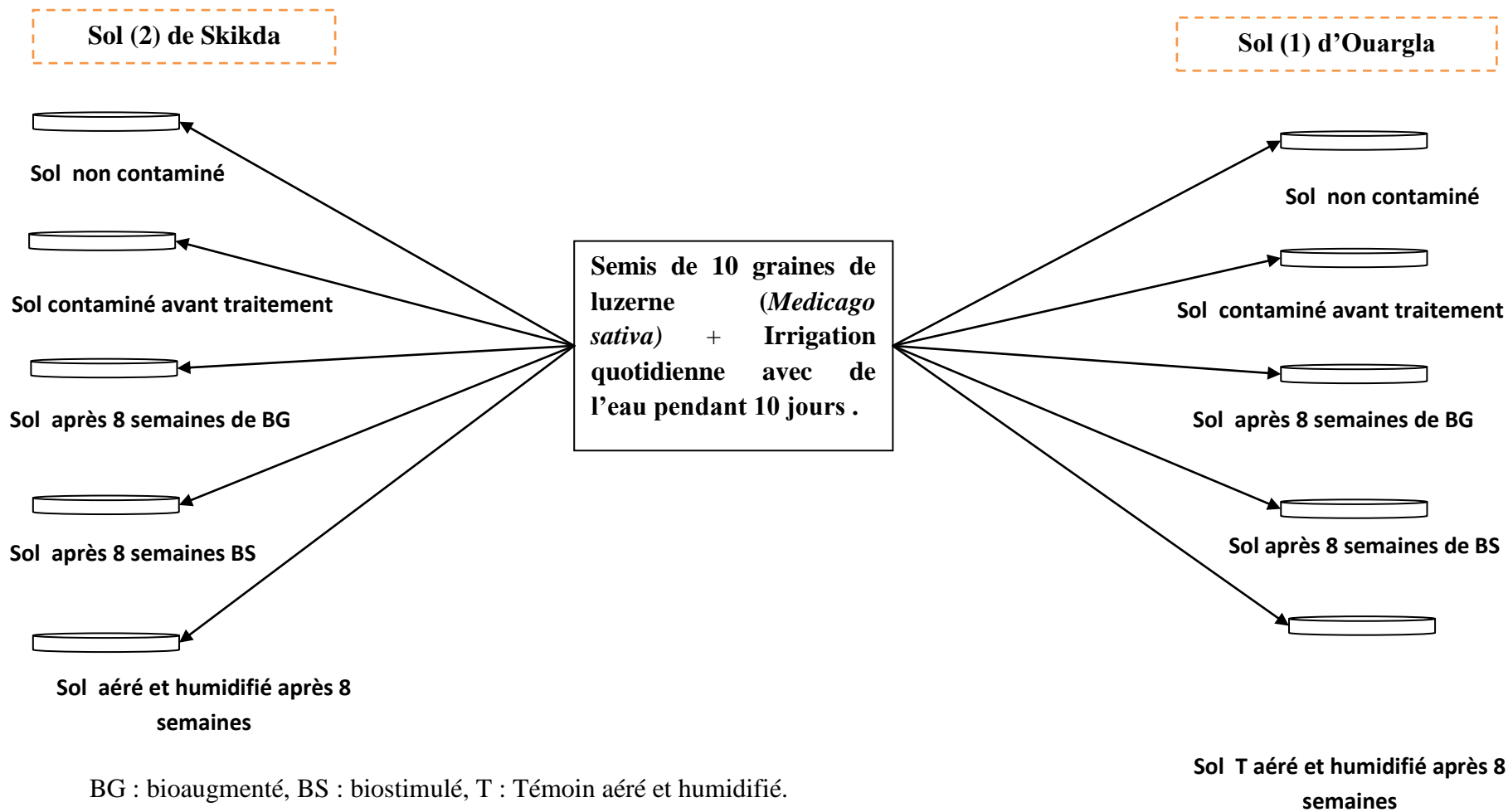


Fig. 5- Dispositif expérimental des tests de germination

## II-Résultats et discussions

### I. Résultats

#### 1. Caractéristiques des sols étudiés

##### 1.1. Granulométrie

Les résultats de l'analyse granulométrique des deux échantillons de sols, font ressortir différentes proportions des constituants qui nous ont permis de définir leur texture selon le triangle textural et l'échelle de classification granulométrique (**Tableaux 3 et 4**).

**Tableau. 3 :** Granulométrie du sol de l'exploitation agricole de l'université de Ouargla.

Classe granulométrique	Sable grossier	Sable moyen	Sable fin	Sable très fin	Argile et limon
Maille des tamis mm (NF X 11-501)	1 mm	0.5 mm	0.2 mm	0.1 mm	0.05 mm
Echantillon	0.1%	1.1%	55.1%	38.1%	5.5%

Les résultats consignés dans le **Tableau 03** font ressortir la prédominance de la fraction de sable fin dans l'échantillon du sol de l'exploitation agricole de l'université de Ouargla. En effet, cette fraction représente à elle seule 55% de la totalité des autres fractions. Le sable très fin est aussi présent en quantité considérable (38%). Les fractions de sable grossier et de sable moyen sont respectivement de 0.1 et 1.1%. L'argile et le limon ne représentent que 5.5% de l'ensemble de l'échantillon (**Tab 3**).

**Tableau. 4 :** Granulométrie du sol de Skikda.

Fraction	A%	LF%	LG%	SF%	SG%
Echantillon	19.9	4.2	68.8	4.3	2.6

**A%** : Argiles ; **LF%** : Limon fin ; **LG%** : Limon grossier ; **SF%** : Sable fin ; **SG%** : Sable grossier.

Les différentes proportions des fractions granulométriques du sol de Skikda sont représentées dans le **Tableau 4**. La proportion de limon grossier est de 68.8% de l'échantillon, alors que le limon fin ne présente que 4.2% de l'échantillon. La fraction

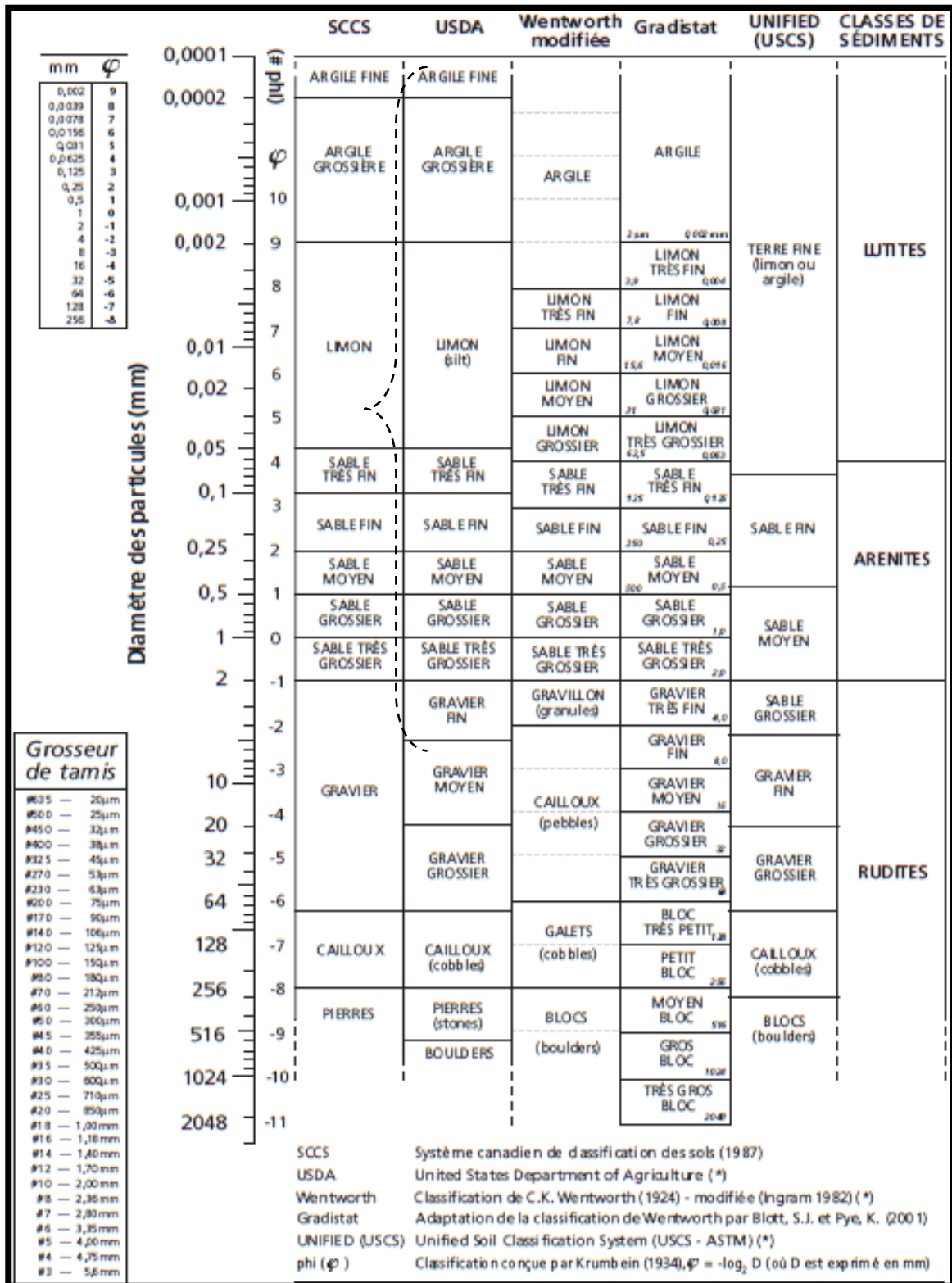


Fig. 7- Echelle et classification granulométrique (Anonyme 3)



argileuse représente 19.9%. Les pourcentages du sable fin et grossier sont de 4.3% et 2.6% respectivement (Tab 4).

La comparaison des résultats des analyses granulométriques (Tab 3 et 4), avec l'échelle granulométrique (Fig 7) mettent en évidence une texture sableuse pour l'échantillon du sol prélevé de l'exploitation agricole de l'université de Ouargla. Tandis que la comparaison des résultats des analyses granulométriques du sol de Skikda avec le triangle textural (Fig 8) montre que ce dernier est un sol limoneux-fin-argileux.

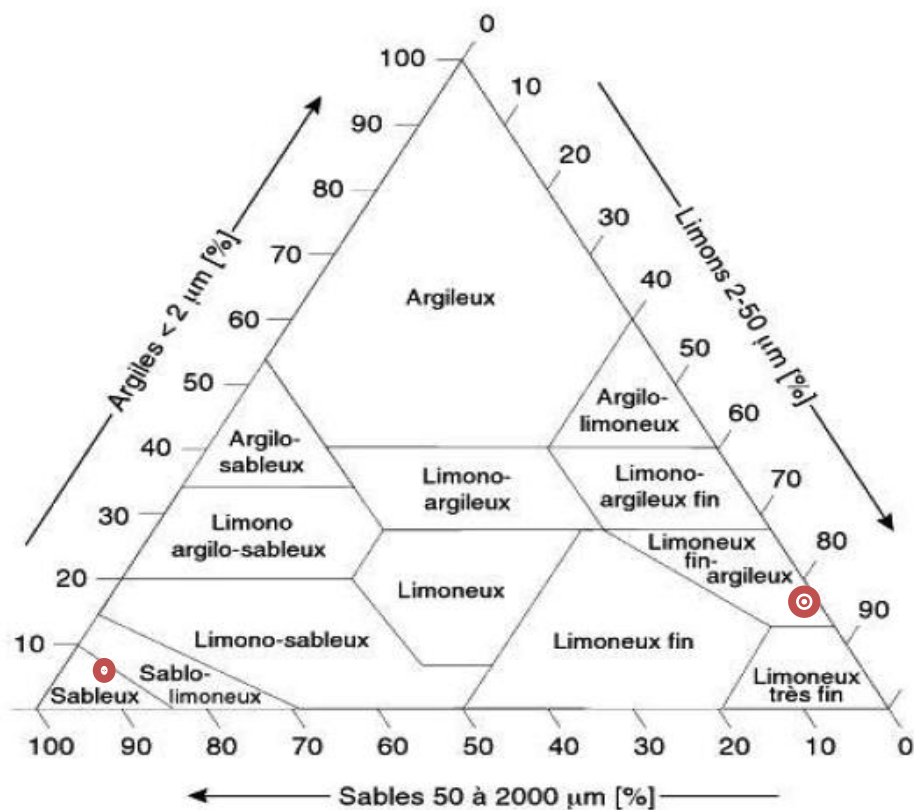


Fig.8- Triangle de texture (GOBAT, 2003).

## 1.2. Propriétés physico-chimiques

Les résultats de l'analyse physico-chimique des sols sont représentés dans le tableau 5.

**Tableau. 5** : Résultats des analyses physico-chimiques des sols.

	Sol sableux	Sol limoneux fin argileux
pH	8.1	6.03
CE ( mS/cm)	3 mS/cm	0.09594 mS/cm
COT avant contamination	1.2 %	1.4%
COT après contamination	3.1 %	2.7 %

Les résultats obtenus font apparaître que le sol sableux a un pH alcalin (8.1), alors que le pH du sol limoneux-fin-argileux ne dépasse pas le seuil de la neutralité avec une valeur de 6.03 (**Tab 5**).

Par ailleurs, la conductivité électrique (CE) de l'extrait 1/5 (sol/eau) du sol sableux est évaluée à 3 mS/cm. Cette valeur montre que ce sol est très salé. A l'opposé, le sol limoneux-fin-argileux est un sol non salé avec une conductivité électrique appréciée de 0.09594 mS/cm (**Tab 5**).

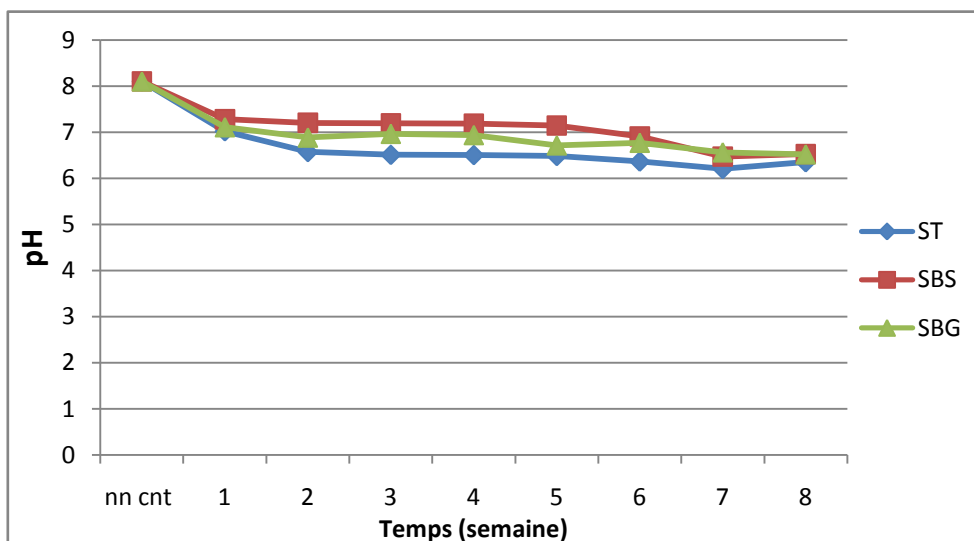
Les deux sols étudiés présentent des teneurs en COT allant de 1.2% dans le sol sableux à 1.4% dans le sol limoneux-fin-argileux. Ces valeurs augmentent après contamination des échantillons avec une même quantité du pétrole brut. Elles atteignent 3.1% et 2.7 % respectivement (**Tab 5**).

## 2. Evolution des paramètres physico-chimiques

### 2.1. Potentiel d'hydrogène

L'évolution du pH des échantillons de sol pourrait être utilisée comme un indice de biodégradabilité des hydrocarbures pendant le processus de biodépollution.

### 2.1.1. Sol sableux



**Fig.9-** Evolution du pH du sol sableux au cours de l'expérimentation (ST : Sable témoin, SBS : Sable biostimulé, SBG : Sable bioaugmenté, nn cnt : sol non contaminé).

D'après la **Figure 9**, les valeurs du pH du sol sableux sont relativement proche dans les trois essais bioaugmenté, biostimulé et le témoin.

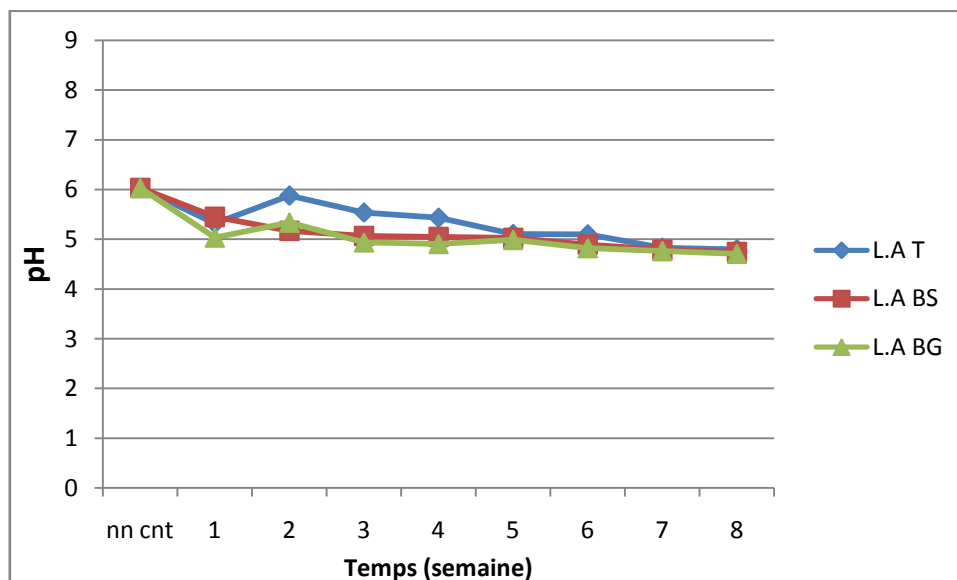
Le pH du sol sableux initialement est de 8.1. Le pH tend à diminuer au cours du traitement, il atteint une valeur de 6.57 dans les échantillons témoins ayant régulièrement aéré et humidifié après une semaine de traitement. Cette diminution est moins prononcée pour les échantillons bioaugmentés et biostimulés les pH sont respectivement de 6.88 et 7.2 (**Fig.9**).

Quatre semaines plus tard on a assisté à une diminution plus remarquable du pH dont les valeurs sont 6.5 dans les échantillons témoins aéré et humidifié, 6.94 dans les échantillons bioaugmentés et 7.18 dans les échantillons biostimulés (**Fig.9**).

A la fin de traitement les valeurs du pH sont de 6.35 dans les échantillons témoins aéré et humidifié, 6.52 dans les échantillons bioaugmentés et dans les échantillons biostimulés (**Fig.9**).

### 2.1.2. Sol limoneux-fin-argileux

L'évolution du pH dans le sol limoneux-fin-argileux au cours de l'expérimentation est représenté par la **Figure 10**.



**Fig.12-** Evolution du pH du sol limoneux- fin-argileux au cours d'expérimentation. (LAT : Limon-argileux témoin, LABS : Limon-argileux biostimulé, LABG : Limon-argileux bioaugmenté, nn cnt : sol non contaminé).

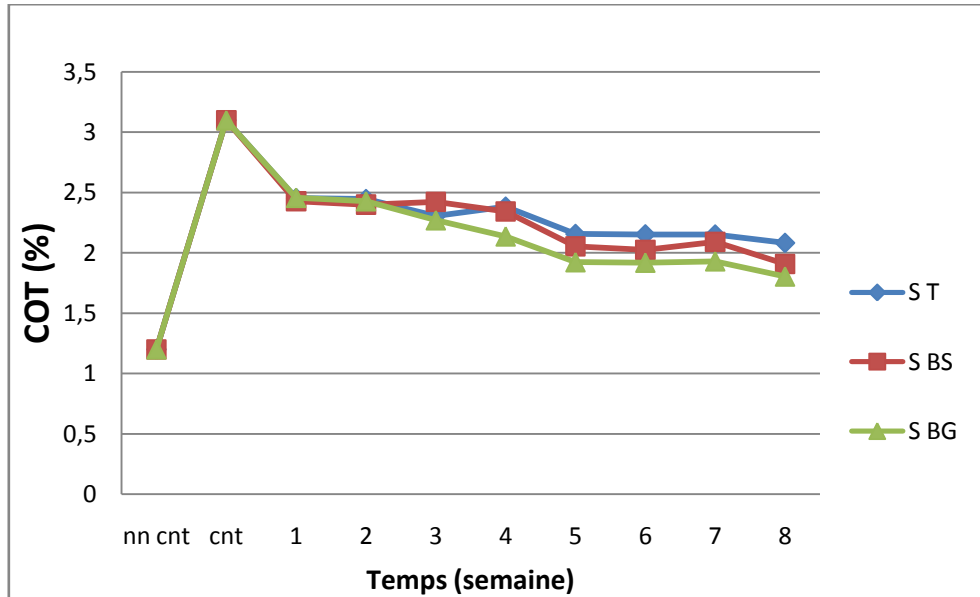
Lors de l'expérimentation, on assiste à une légère diminution du pH qui passe de 6.03 à 5.45 pendant la première semaine. Ce paramètre diminue d'avantage après 4 semaines d'expérimentation, ces valeurs comprises entre 4.9 et 5.43, ne sont pas plus que de 5.43 dans les échantillons témoin aéré et humidifié, 5.04 dans les échantillons biostimulés, et 4.9 dans les échantillons bioaugmentés (**Fig.12**).

Au delà de la 4ème semaine et jusqu'à la 8<sup>ème</sup> semaine, le pH des différents échantillons tend à se stabiliser et atteint une valeur de 4.79 dans les échantillons témoin aéré et humidifié, 4.74 dans les échantillons biostimulés, et 4.7 dans les échantillons bioaugmentés (**Fig.12**).

## 2.2. Evolution du carbone organique total

La détermination de la teneur des échantillons pollués par les hydrocarbures en carbone organique totale est un moyen d'évaluer l'évolution de ce contaminant hydrocarboné au cours de notre expérimentation.

### 2.2.1. Sol sableux



**Fig.13-** Evolution de COT dans le sol sableux au cours e l'expérimentation.

(**ST** : Sable témoin, **SBS** : Sable biostimulé, **SBG** : Sable bioaugmenté, **nn cnt** : sol non contaminé).

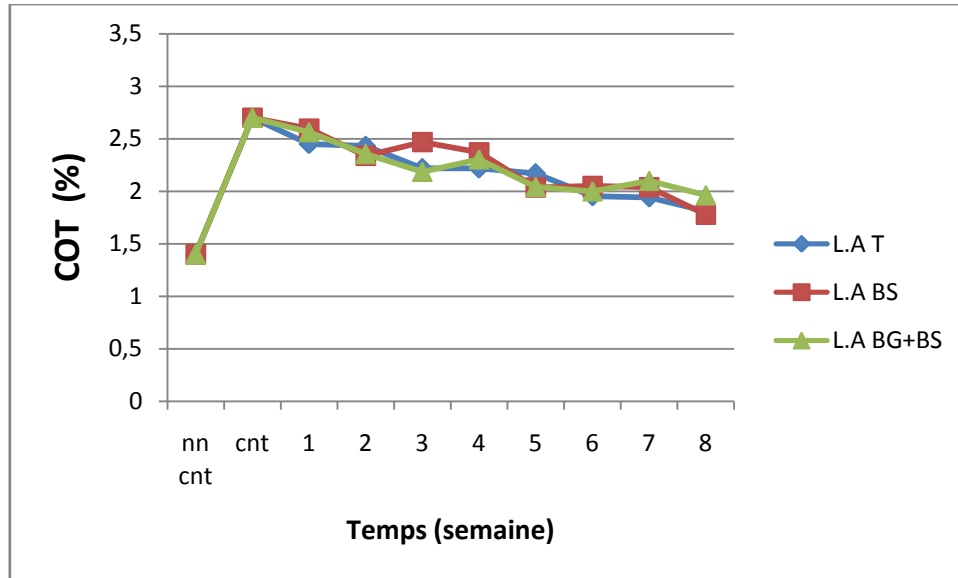
La teneur en COT dans le sol sableux avant la contamination est 1.2%. Après une semaine de contamination cette valeur a augmenté pour atteindre le 3.1% (**Fig.13**).

Après une semaine de traitement, le COT des différents échantillons du sol sableux, attient des valeurs de 2.45% dans le témoin aéré et humidifié et dans les échantillons bioaugmentés, 2.42% dans les échantillons biostimulés(**Fig.13**).

Les teneurs en COT dans les échantillons traités continuent de diminuer pour atteindre un taux de 2.38%, 2.13% et 2.34 % après quatre semaines de traitement dans les échantillons témoins aéré et humidifié, bioaugmentés et biostimulés respectivement (**Fig.13**).

A la fin de l'expérimentation les teneurs en COT évalué de 2.08%.1.8% et 1.9% dans les échantillons témoins aéré et humidifié, bioaugmentés et biostimulés respectivement (**Fig.13**)

### 2.2.2. Sol limoneux-fin-argileux



**Fig.14-** Evolution de COT dans le sol limoneux-fin-argileux au cours d'expérimentation.

(**LAT** : Limon-argileux témoin, **LABS** : Limon-argileux biostimulé, **LABG** : Limon-argileux bioaugmenté).

A partir des résultats présentés dans la **Figure 14**, le taux de COT dans le sol limoneux-fin-argileux est de 1.4% avant la contamination et 2.7% après la contamination.

Les teneurs en COT dans les échantillons bioaugmentés ont diminué au cours du traitement du sol de 2.56% à la première semaine, 2.3% à la quatrième semaine, et 1.96% à la 8ème semaine (**Fig.14**).

Pour les échantillons biostimulés du sol limoneux-fin-argileux le taux de COT a diminué de 2.59% après une semaine, à 2.37% après quatre semaines, pour atteindre la valeur de 1.77% à la fin du traitement(**Fig.14**).

Le taux de COT dans les échantillons témoins aéré et humidifié du sol limoneux-fin-argileux a été apprécié de 2.45% après une semaine de traitement, cette valeur continue a diminué pour atteindre le 2.21% à la 4ème semaine et 1.8% à la 8eme semaine (Fig.14).

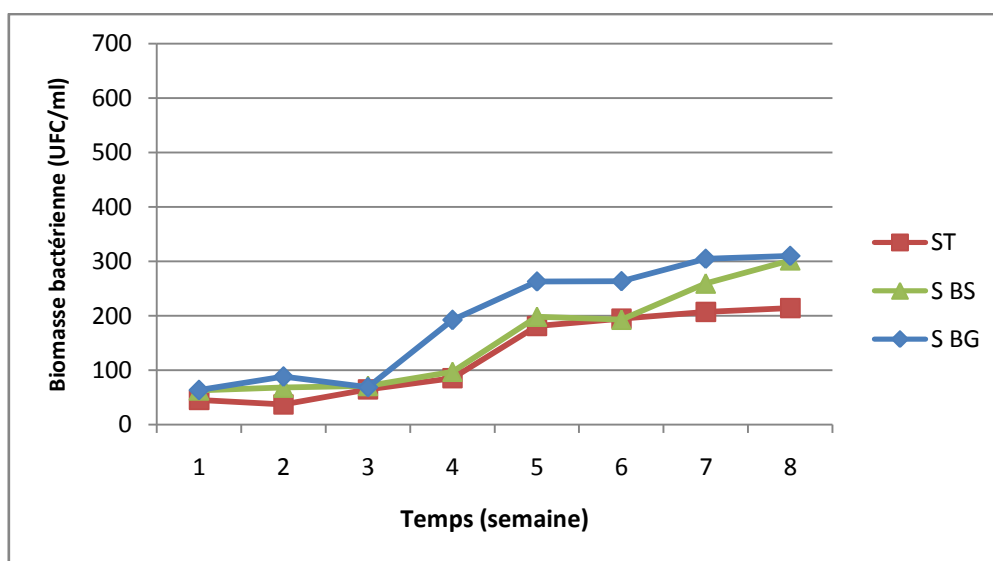
### 3. Evolution des paramètres biologiques

#### 3.1. Evolution de la biomasse bactérienne

L'évolution de la biomasse bactérienne des échantillons traité aurait servir d'indication de l'efficacité du dispositif adopté.

Les variations de la biomasse bactérienne dans les deux sols pendant 8 semaines de traitement sont représentés sur les Figures 15 et 16.

##### 3.1.1. Sol sableux



**Fig.15-** Evolution de la charge bactérienne dans le sol sableux au cours d'expérimentation.

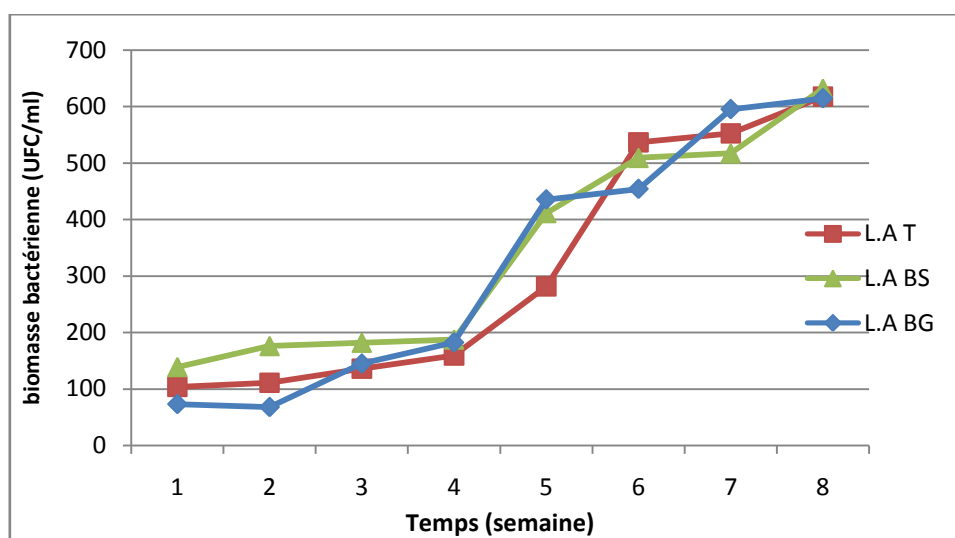
(**ST** : Sable témoin, **SBS** : Sable biostimulé, **SBG** : Sable bioaugmenté)

Une faible charge bactérienne a été appréciée dans le sol sableux pour les trois lots expérimentaux, avec des valeurs allant de  $45 \cdot 10^8$  UFC /ml à  $70 \cdot 10^8$  UFC /ml et ce depuis le début de l'expérimentation jusqu'à 3 semaines plus tard (Fig.15).

Les biomasses la plus importante sont révélées dans les bacs bioaugmentés où elles atteignent  $309 \cdot 10^8 \text{UFC/ml}$  soit près de 10 fois plus qu'au début de l'expérimentation. Dans les échantillons biostimulés cette augmentation de la biomasse est comparable à celle des échantillons bioaugmenté (**Fig.15**).

La biomasse bactérienne des échantillons témoins n'ayant reçu qu'un traitement d'aération et humidification a aussi connu une augmentation pour atteindre  $214 \cdot 10^8 \text{UFC/ml}$  à la fin de l'expérimentation (**Fig.15**).

### 3.1.2. Sol limoneux-fin-argileux



**Fig.16-** Evolution de la charge bactérienne dans le sol limoneux-fin-argileux au cours de l'expérimentation.

(**LAT** : Limon-argileux témoin, **LABS** : Limon-argileux biostimulé, **LABG** : Limon-argileux bioaugmenté).

D'après la **Figure 16** la charge bactérienne noté dans les 3 essais du sol limoneux-fin-argileux durant le 1<sup>er</sup> mois de l'expérimentation varie entre  $73 \cdot 10^8 \text{UFC/ml}$  et  $181 \cdot 10^8 \text{UFC/ml}$ .

Dès la 4<sup>ème</sup> semaine une augmentation de la charge bactérienne est notée dans les échantillons bioaugmentés. Elle évolue de  $182 \cdot 10^8 \text{UFC/ml}$  pour atteindre le  $614 \cdot 10^8 \text{UFC/ml}$  à la 8<sup>ème</sup> semaine.



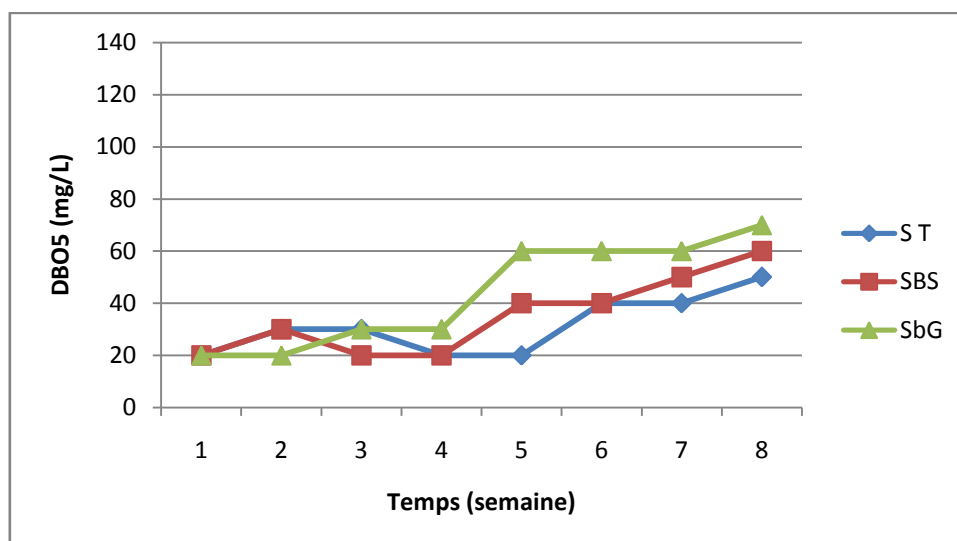
Les biomasses bactériennes les plus importantes sont appréciés dans les échantillons biostimulés du sol limoneux-fin-argileux avec des valeurs allant entre  $187.10^8$ UFC/ml à la 4ème semaine et  $631.10^8$ UFC/ml à la 8ème semaine.

La charge bactérienne dans les échantillons témoins aéré et humidifié a connu une augmentation comparable à celle des échantillons bioaugmentés et biostimulés. Les valeurs allant entre  $158.10^8$ UFC/ml à la 4ème semaine et  $617.10^8$ UFC/ml à la fin de l'expérimentation.

### 3.2. Evolution de la demande biologique d'oxygène (DBO5)

L'évaluation de la demande biologique en oxygène renseigne sur l'activité microbienne dans les deux sols au cours du traitement.

#### 3.2.1. Sol sableux



**Figure17-** Evolution de la DBO du sol sableux au cours de l'expérimentation.

(**ST** : Sable témoin, **SBS** : Sable biostimulé, **SBG** : Sable bioaugmenté).

D'après la **Figure 17**, la DBO des échantillons des trois essais de sol sableux est initialement évaluée à 20 mg/L et demeure aussi durant les 4 premières semaines, puis elle augmente progressivement.

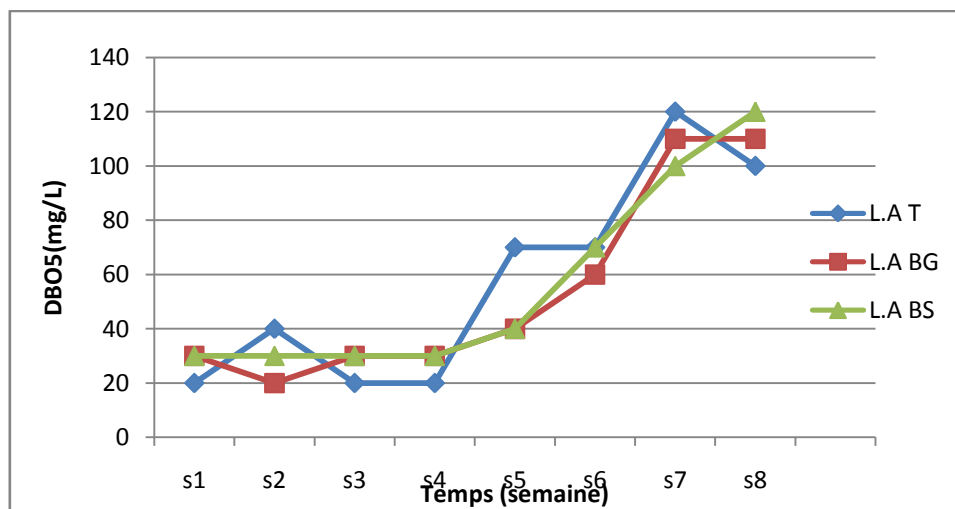
La BDO des échantillons du sol sableux bioaugmenté initialement de 20 mg/L est restée inchangée durant les deux premières semaines, puis elle subit une légère augmentation pendant les deux semaines qui suivent pour atteindre 30 mg/L. A partir de la 4ème semaine, la DBO continue d'augmenter pour atteindre 70 mg/L à la fin de l'expérimentation (Fig.17).

Les échantillons biostimulés du sol sableux ont des valeurs de DBO oscillent entre 20 et 30 mg/L durant le 1<sup>er</sup> mois de traitement. Une augmentation a été enregistrée à la 5ème semaine où la valeur de la DBO est évaluée à 40 mg/L, pour atteindre 60 mg/L à la fin de l'expérimentation (Fig.17).

La BDO dans les échantillons de sol sableux témoin aéré et humidifié varie pendant les 4 premières semaines entre 20 et 30mg/L. Ses valeurs évoluent de 20 mg/L au début à 50mg/L à la 8ème semaine (Fig.17).

Les valeurs de la demande biologique en oxygène dans le sol témoin au premiers mois allant entre 20 et 30 mg/L. à la 5eme semaine sont devenues 40 mg/L et 50 mg/L à la 8ème semaine(Fig.17).

### 3.2.2. Sol limoneux-fin-argileux



**Figure18-** Courbes d'évolution de la DBO de sol limoneux-fin-argileux au cours de l'expérimentation

(**LAT** : Limon-argileux témoin, **LABS** : Limon-argileux biostimulé, **LABG** : Limon-argileux bioaugmenté).

Les résultats présentés dans la **Figure 18** montrent que l'évolution de la DBO dans les trois essais sur le sol limoneux-fin-argileux passe par deux phases. La 1<sup>ère</sup> phase, avec de faibles quantités d'oxygène demandées jusqu'à la 5<sup>ème</sup> semaine et la 2<sup>ème</sup> phase avec une augmentation progressif de la demande biologique en oxygène (**Fig.18**).

Durant les 4 premières semaines de l'expérimentation, la DBO pour les échantillons bioaugmentés ne dépasse pas les 40 mg/l. Un accroissement des valeurs a été enregistré dès la 5<sup>ème</sup> semaine jusqu'à la 8<sup>ème</sup> semaine avec une concentration d'oxygène demandé mesurée de 110 mg/l (**Fig.18**).

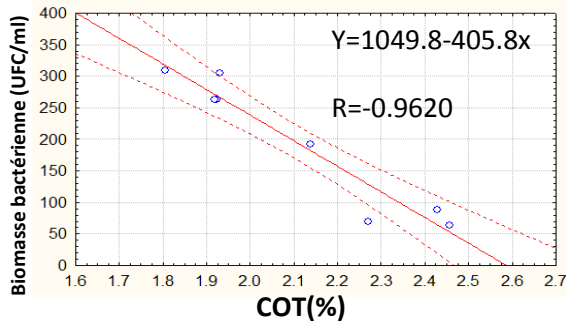
Pour les échantillons biostimulés la DBO initialement de 30 mg/l est restée constante jusqu'à la 5<sup>ème</sup> semaine de traitement où elle atteint la valeur de 40 mg/l et atteint 120 mg/l à la 8<sup>ème</sup> semaine de traitement (**Fig.18**).

La DBO dans le témoin aéré et humidifié, passe aussi par deux phases, la 1<sup>ère</sup> phase commence de la 1<sup>ère</sup> semaine jusqu'à la 4<sup>ème</sup> semaine où les valeurs varient entre 20 et 40 mg/l. Dès la 5<sup>ème</sup> semaine une augmentation de la demande biologique en oxygène est notée. Elle varie de 70 mg/l à 100 mg/l à la fin de l'expérimentation (**Fig.18**).

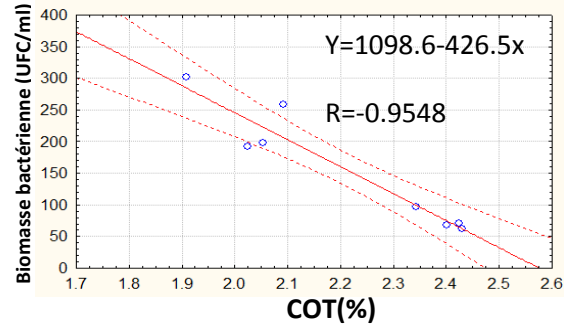
#### **4. Etudes statistiques**

L'analyse statistique des résultats de la variation des biomasses bactériennes en fonction des concentrations en carbone organique total dans les différents échantillons de sols ont été effectués par le logiciel STATISTICA (version 8.0) (figures 19, 20, 21, 22, 23, 24).

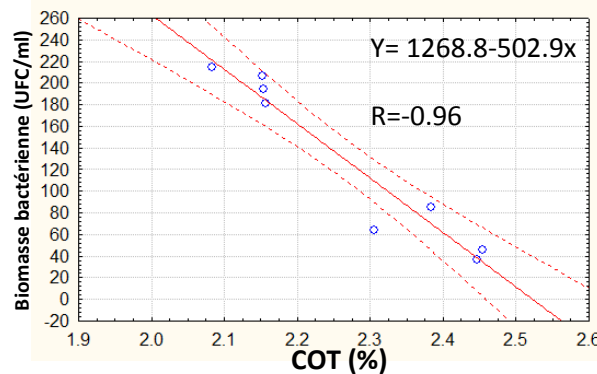
#### 4.1. Corrélation entre l'évolution de la biomasse bactérienne et le COT dans le sol sableux pour la phase d'intense dégradation



**Fig.19 :** Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol sableux bioaugmenté.



**Fig.20 :** Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol sableux biostimulé.

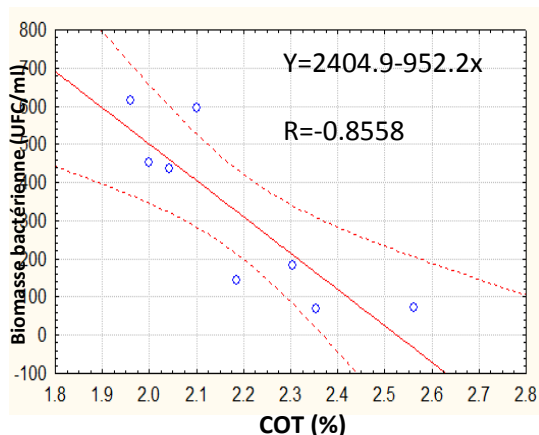


**Fig.21 :** Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol sableux témoin.

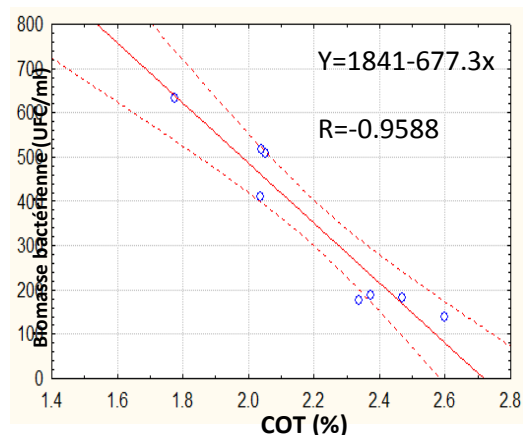
Les figures 19, 20 et 21, montrent que la variation des biomasses bactériennes en fonction de la concentration en carbone organique total pour les échantillons (bioaugmenté, biostimulé et témoin) du sol sableux, sont corrélés négativement du fait qu'avec l'augmentation de la biomasse bactérienne, les valeurs de COT tendent à diminuer.

La courbe de tendance ayant un coefficient  $R= -0.96$  pour l'échantillon bioaugmenté,  $R=-0.95$  pour les biostimulé, et  $R=-0.96$  pour le témoin, ces valeurs révèlent une corrélation hautement significative inversement proportionnelle entre les teneurs des sols en COT et la concentration de la microflore bactérienne.

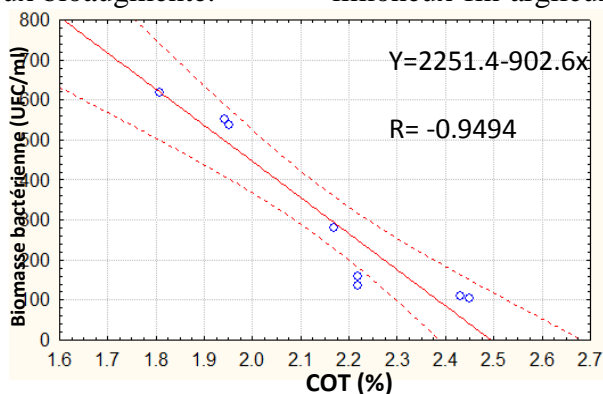
#### 4.2. Corrélation entre l'évolution de la biomasse bactérienne et le COT dans le sol limoneux-fin-argileux pour la phase d'intense dégradation



**Fig. 22 :** Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol limoneux-fin-argileux bioaugmenté.



**Fig. 23 :** Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol limoneux-fin-argileux biostimulé.



**Fig. 24 :** Courbe de tendance entre la concentration en COT et la biomasse bactérienne dans l'échantillon du sol limoneux-fin-argileux témoin.

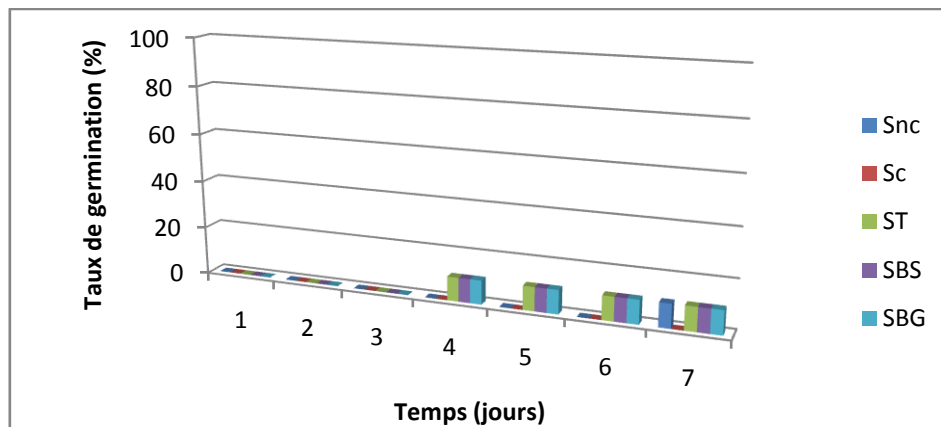
D'après les figures 22, 23 et 24 on constate une corrélation négative entre la variation des biomasses bactériennes et la concentration du carbone organique total pour les échantillons (bioaugmenté, biostimulé et témoin) du sol limoneux-fin-argileux.

Les coefficients des courbes de tendance (échantillons bioaugmenté  $R=-0.85$  ; les biostimulé  $R=-0.95$  et le témoin  $R=-0.94$ ) montrent que les corrélations sont hautement significatives, inversement proportionnelle entre les deux variables (Biomasse bactérienne et COT).

## 5. Pouvoir germinatif des graines de luzerne dans les sols réhabilités

Les tests biologiques sur les sols réhabilités et non, montrent des taux de germination différents pour chaque échantillons des deux sols.

### 5.1. Sol sableux



**Fig. 25-** Taux de germination maximal rapporté pour les graines de *M.Sativa* semé sur le sol sableux avant et après réhabilitation.

(Snc : sol non contaminé, Sc sol contaminé, ST : sol témoin, SBS : sol biostimulé, SBG : sol bioaugmenté)

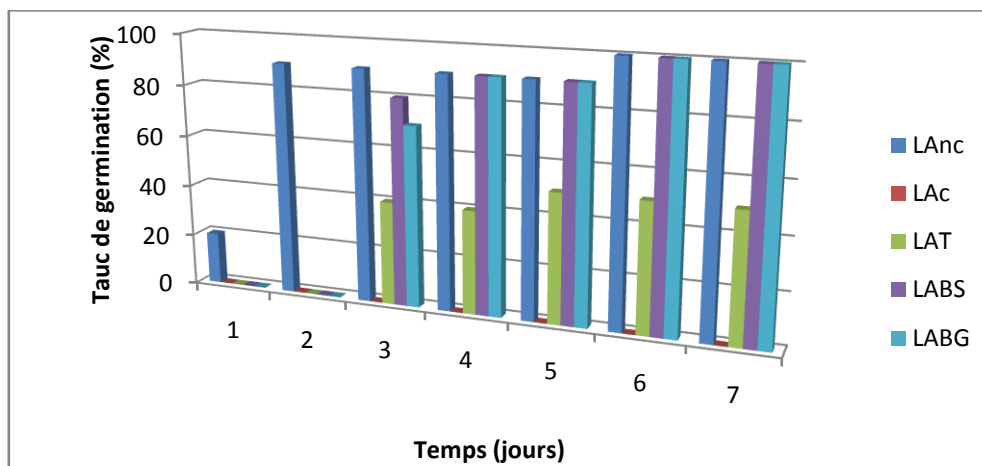
Les pourcentages de germination des graines sont représentés par la Figure 25.

D'après la Figure 25 aucune graine n'a germé durant les trois premiers jours dans tous les lots expérimentaux.

A partir du 4ème jour, un taux de germination de 10% est enregistré dans les sols témoins, biostimulés et bioaugmentés, alors que la germination des graines de luzerne dans le sol non contaminé a commencé que le 7ème jour avec un taux de germination de 10% (**Fig.25**).

Pour le sol contaminé non traité, aucune graine n'a germé durant les 7jours de l'essai (**Fig.25**).

## 5.2. Sol limoneux-fin-argileux



**Fig. 26-** Taux de germination maximal rapporté pour les graines de *M.Sativa* semé sur le sol limoneux-fin-argileux avant et après réhabilitation.

(Snc : sol non contaminé, Sc sol contaminé, ST : sol témoin, SBS : sol biostimulé, SBG : sol bioaugmenté)

La figure 26 montre le taux de germination maximal des graines de luzerne sur le sol limoneux-fin-argileux réhabilité et non.

Dès le premier jour de l'essai, 20% des graines semées dans le sol non contaminé ont germé, alors que sur les autres sols, aucune graine n'a germé. Le deuxième jour, 90% des graines ont germé sur le sol non contaminé et le taux de germination enregistré sur les autres sols reste nul (**Fig. 26**).

Pour les échantillons de sol bioaugmenté et biostimulé un taux de germination est enregistré à partir du troisième jour de l'essai de 70% et 80% respectivement (**Fig. 26**).

A partir du quatrième jour, le taux de germination enregistré de 90% pour les graines semées dans les échantillons de sol bioaugmenté et biostimulé. Un taux de 100% est atteint le dernier jour de l'essai (**Fig. 26**).

Pour les graines semées dans un sol contaminé aéré et humidifié un taux de germination de 40% est enregistré le 3ème jour. A partir du 5ème jour le taux de germination enregistré est de 50%, et ce jusqu'à la fin de la période de l'essai (**Fig. 26**).

Aucune graine n'a germé sur le sol contaminé non traité durant tous les jours de l'essai (**Fig. 26**).

## **II. Discussions**

Après une semaine de contamination expérimentale du sol, les résultats montrent que le sol sableux a un taux de carbone organique total supérieur à celui du sol limoneux-fin-argileux. Ceci pourrait être expliqué par une plus forte adsorption du pétrole par les particules du sol limoneux fin argileux que celles du sol sableux et donc une faible remobilisation.

Les sables ont un rôle fondamental dans l'élaboration de la structure du sol, cette fraction minérale ne semble pas intervenir de façon importante dans les phénomènes d'adsorption des hydrocarbures dans le sol (**BAYARD, 1997 ; JAYR et al, 2000**).

L'adsorption d'une partie de pétrole sur les argiles contenue dans le sol limoneux-fin-argileux peut s'expliquer par la faible taille des particules qui entraîne une augmentation de leur surface de contact et par conséquent leur capacité d'échange cationique (**DROUET, 2010**).

La distribution de la porosité et la perméabilité influe à son tour sur le comportement physique du sol. Et en particulier, sur les processus de transfert, d'adsorption et de mobilité des polluants organiques (**BIDAUD, 1998 ; AMELLAL, 2003**).

### **1. Effet de l'activité bactérienne sur la teneur en carbone organique total du sol**

L'évolution des populations bactériennes, suite à une pollution peut mettre en évidence les capacités épuratrices de certains microorganismes. En effet, l'augmentation de groupes bactériens au niveau d'un environnement pollué pourrait dénoter une capacité à dégrader le polluant (**MILITON, 2007**).

Les faibles biomasses bactériennes observées lors des premières semaines de contamination sont expliquées selon **VOGEL et BALLERNI (2001)** par l'action toxique du polluant qui provoque un ralentissement de l'activité de la microflore du sol.



Cependant, d'autres auteurs supposent que cette période est une période d'adaptation des microorganismes endogènes en général et des bactéries additionnées pour la bioaugmentation avec la pollution délibéré et avec le nouveau milieu (**SPAIN, 1990**).

D'après **KLIMKOWICZ et MALISZEWSKA (2003)**, les microorganismes dans les sites pollués aux hydrocarbures depuis longtemps, présentent la capacité de s'adapter à la présence du polluant. Leur sensibilité vis-à-vis des composés organiques peut ainsi être diminuée de plusieurs ordres de grandeur. **BARRIUSO et al, (1996)**; **BARRIUSO et al., (2000)** ont démontré que la dégradation des hydrocarbures pétroliers dans un sol ayant déjà été exposé à ces molécules est plus rapide que dans un sol non précédemment exposé.

## **2. Effet de l'activité bactérienne sur le pH du sol**

L'activité bactérienne des sols étudiés en présence des hydrocarbures tend à diminuer leur pH. Cette diminution peut être liée à la production d'acides lors de la biodégradation des hydrocarbures.

L'activité de dégradation des hydrocarbures par les microorganismes peut engendrer une baisse du pH du sol, du fait que le principal processus de dégradation des alcanes utilisé par la plupart des bactéries est l'oxydation monoterminal qui conduit à la formation de l'alcool primaire puis de l'aldéhyde et de l'acide gras correspondant (**PIRNICK et al, 1974**; **NIEDER et SHAPIRO, 1975**; **GRUND et al, 1975**).

D'un autres coté, la voie métabolique de l'oxydation des alcanes par le système de dioxygénase conduit aussi à la formation d'un acide (**FINNERTY, 1977, 1988**).

Les voies d'oxydation subterminale et terminale des alcanes fournissent des acides à la fin de la réaction (**BERTRAND et MILLE, 1989**).

La biodégradation des composés telle que les cycloalkanes et les alkyl-cyclohexanes conduit à la synthèse de différents acides (formique, acétique, butyrique, lactique) (**BEAM et PERRY, 1974**; **TRUDGILL, 1978** ; **BERTRAND et MILLE, 1989**).

### **3. Effet de la texture du sol sur la prolifération bactérienne**

Les résultats des analyses granulométriques des deux sols mettent en évidence une texture sableuse pour le premier sol et le deuxième est un sol limoneux-fin-argileux.

Les textures des sols étudiés pourraient influencer directement la biodiversité de l'écosystème sol (**SESSITSCH *et al*, 2001**).

Le couple texture structure a un impact très important sur les bioprocédés de traitement des sols pollués (**LECOMTE, 1995**).

Selon **MILITON (2007)**; les différences de biodégradation sont imputables au développement de différentes populations bactériennes en fonction du type de sol .Pour cela, il est important de connaître la nature du sol à traiter.

La taille des pores et les propriétés de l'eau et de l'air dans ces pores sont des facteurs spécifiques de chaque sol dont elles sont déterminées par leur texture et leur structure (**GIRARD *et al*, 2005**).

La proportion d'argile dans le sol limoneux-fin-argileux fournit donc aux bactéries l'environnement favorable pour leur activité d'échange puisqu'on peut considérer que la fraction d'argile se comporte comme une sorte d'interpot dans laquelle serait mise en réserve une partie des ressources nutritives et d'eau (**DAVIS, 1996**).

La localisation préférentielle des microorganismes au niveau des limons et de la fraction fine plutôt qu'au niveau des sables fins (50 à 200  $\mu\text{m}$ ) a été confirmée par **SESSITSCH *et al.*, (2001)**.

### **4. Efficacité du procédé de réhabilitation**

L'inhibition totale de la germination des graines de luzerne dans le sol contaminé suggère la toxicité du polluant vis-à-vis de ces graines.

Par ailleurs, l'inhibition de la germination peut avoir plusieurs causes liées au changement des propriétés du sol après contamination. En effet, la présence des

hydrocarbures dans le sol entraîne une faible perméabilité et une faible infiltration qui maintiennent le sol asphyxié (ABDELY, 2007).

Les forts taux de germination des graines de luzerne semis dans le sol limoneux-fin-argileux bioaugmenté et biostimulé réhabilité témoigne de la réussite des procédés adopté.

## ***Conclusion***

---

# Conclusion

---

L'objectif de notre travail était de rechercher la performance de souches bactériennes hydrocarbonoclastes isolées à partir des sols sahariennes dans la réhabilitation de deux sols de différentes textures contaminés par les hydrocarbures.

Pour une bonne compréhension du processus impliqué, nous avons procédé à la réalisation d'une comparaison entre la biodégradation des hydrocarbures dans un sol à texture sableuse et un autre à texture limoneuse.

Des échantillons de sols sont bioaugmentés par des souches bactériennes et stimulés par l'ajout des éléments nutritifs et par une aération et humidification quotidienne. D'autre part, l'efficacité du traitement a été évaluée par le suivi de la biomasse bactérienne, l'évolution de l'activité de la microflore du sol, la variation du potentiel d'Hydrogène et l'évolution des teneurs en carbone organique total.

La mise en œuvre d'expérience sur des sols volontairement pollué par des hydrocarbures pétroliers a montré que le traitement de ces sols était possible par les procédés biologiques adoptés.

Deux mois de traitement sont suffisants pour dégrader la quasi-totalité de polluant dans les échantillons des deux sols.

La bioaugmentation par des souches autochtones sahariennes a donné une meilleure atténuation des hydrocarbures dans le sol à texture sableuse prélevé de la région de Ouargla que dans le sol à texture fine limoneuse qui a été prélevé de la région de Skikda. Ceci affirme une meilleure performance de ces souches dans le sol de texture sableuse.

L'utilisation de l'engrais à base des éléments NPK comme agent stimulant, permet de renforcer l'activité de la microflore indigène. Cette activité s'avère plus forte dans les échantillons de sol à texture limoneuse que dans les échantillons de sol sableux.

La stimulation par aération et humidification conduit à une réduction significative de la concentration initiale des contaminants dans les deux sols.

L'évolution de la biomasse bactérienne et l'activité de la microflore dans les échantillons des deux sols et le rabattement des valeurs de COT sont lié à la biodégradation des hydrocarbures dans le sol au cours de l'expérimentation.

L'abaissement du pH dans les échantillons des deux sols au cours du processus de biodégradation des hydrocarbures peut résulter des produits de cette dégradation.

D'après les biotests effectués sur les sols réhabilités, le procédé de bioremédiation adopté semble rendre partiellement les caractères culturaux de ces sols.

A l'issue de nos résultats, il serait souhaitable de compléter cette étude par :

- L'application de ces procédés sur des échantillons de sols prélevés dans les borbiers.
- L'augmentation de la concentration du polluant afin de déterminer l'aptitude maximale des souches à biodégrader les hydrocarbures.
- L'essai d'autres molécules stimulant la microflore tellurique.
- L'application à plus grande échelle du procédé de réhabilitation dans les conditions de terrain.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

---

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ABDELY C., 2007.** Bioremédiation/phytoremédiation. Thèse. Département des sciences naturelles. Institute supérieur de l'éducation et de la formation continue. Université de Tunisie.
2. **ALBAN R., 1999.** Vie bactérienne du sol, comment faire pour la respecter et la préserver ?. Symbiotech.
3. **ALO, C., DALLONGEVILLE A., MAHAMOUD YUCEF A et VIN B ; 2011.** Evaluation des risques chroniques liés à l'exposition aux polluants chimiques des primo-intervenants lors de la collecte de pétrole brut lourd déversé en mer avec ou sans utilisations de dispersants. Ecole des hautes études en santé publique. France.
4. **ALVAREZ G., 2010.** Propriétés interfaciales des composés amphiphiles d'une brut lourde influence sur le comportement des émulsions. Thèse de Doctorat. Université de Paris-sud XI (France).
5. **ALVAREZ PJ et ILLMAN W A. 2006.** Bioremediation and natural attenuation. Ed. John Wiley & Sons. CANADA.
6. **AMELLAL N, 2003.** Devenir des hydrocarbures ployaromatiques dans les sols: impact des paramètres physico-chimiques et microbiologiques. Thèse de Doctorat. Université de Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fes. MOROCO.
7. **ANEEZA S, 2009.** Impacts agronomiques et environnementaux de l'épandage de vinasse et de cendre de charbon/bagasse sur les terres agricoles de l'île Maurice. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France).
8. **Anonyme 1 : EUROPEAN COMMISSION., 2008.** les champignons du sol. International Day for Biological Diversity CBP COP-9, Bonn, 22 May 2008.
9. **Anonyme 2. ADEME, 2006.** Traitement biologique des sols pollués : recherche et innovation, Etude réalisée pour le compte de l'ADEME : agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie édition, Angers, France.
10. **Anonyme 3. USDA. 2002.** description et échantillonnage des sols, version 2.
11. **ATLAS R. M et BARTHA R., 1992.** Microbial ecology. Fundamentals and applications. 3<sup>rd</sup> edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company. San Francisco, California (USA), 563.



12. **AUBERT G., 1978.** Méthodes d'analyses des sols. Edit. C.R.D.P.Marseille.189p.
13. **BABA AHMED A., 2012.** Etude de contamination et d'accumulation de quelques métaux lourds dans des céréales, des légumes et des sols agricoles irrigués par des eaux usées de la ville de hammam Boughrara. Thèse de Doctorat. Université ABOU BEKR BELKAID – Tlemcen (Algérie).
14. **BADO-NILLES, 2008.** Effets de pollutions par hydrocarbures sur les capacités de défense d'organismes marins. Thèse de Doctorat. Université de la ROCHELLE.
15. **BARRIUSO E, CALVET R, SCHIAVON M, SOULAS G., 1996.** Les pesticides et les polluants organiques dans les sols. Etude et gestion des sols. 3 : p.279-295.
16. **BARRIUSO E, SOULAS G, SCHIAVON M .2000.** Rétention et dégradation des pesticides dans les sols. Hydrogéologie, 1 :p.49-56.
17. **BATTAZ S., 2009.** Etude comparative de la dégradation d'une terre polluée par des hydrocarbures lourds. Mémoire Magister. Université 20 Août 1955 Skikda. Algérie.
18. **BAYARD R., 1997.** Etude de l'adsorption/désorption de polluants organiques dans les sols. Approche méthodologique et application au pentachlorophénol et aux hydrocarbures aromatiques polycycliques. Thèse de doctorat. Lyon : INSA de Lyon, 231 p. France.
19. **BEAM, H.W et PERRY, J.J., 1974.** Microbial degradation and assimilation of n-alkyl-substituted cycloparaffins. Journal of Microbiology 118, 394-399.
20. **BERGUE J M., 1986.** La pollution des sols par les hydrocarbures. laboratoire régional de ROUEN.
21. **BERTRAND, J.C. ET MILLE, G., 1989.** Devenir de la matière organique exogène. Un modèle: les hydrocarbures. In: Bianchi, M., Marty, D., Bertrand, J.C., Caumette, P. et Gauthier, M.J. (Eds.), Microorganismes dans les écosystèmes océaniques. Masson (Paris), Chapitre 13, pp. 343-385.
22. **BIDAUD C., 1998.** Biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques approche microbiologique et application au traitement d'un sol pollué. Thèse de Doctorat. Institut national polytechnique de Grenoble et de l'école nationale supérieure des mines de Saint-Etienne (France).

23. **BOUDERHEM A.** 2011. Utilisation des souches bactériennes telluriques autochtones dans la bio détection et la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures. mémoire magister. Univ Ouargla. Algérie.
24. **CALVET R.,** 2000. Le sol propriétés et fonctions, constitution et structure, phénomènes aux interfaces. Tome 1. Edition France Agricole. Paris (France), 83-90.
25. **CALVET, R.** 2003. Le sol : Propriétés et fonctions. Tome 1 : constitution et structure, phénomènes aux interfaces. Ed. France agricole. 456p.
26. **CAMUZARD J.P, (s.d.).** sol, un milieu complexe au pouvoir épurateur limité, ENGREF, 13 p.
27. **CARRILLO-AVILA.,** 1995. Modélisation de transfert hydraulique dans le système sol-plante atmosphère. Application à la plaine de la Bièvre(Isère). Université Joseph Fourier-Grenoble 1, 213p.
28. **CHIOU, C.T. & SHOW, T.D.** (1985) Soil Sorption of Organic Vapors & Effects of Humidity on Sorptive Mechanism & Capacity. *Env. Sci. Technol.*, 18.4-10.
29. **COLOMBANO S.,** Guerin, V., Saada, A., Hiez, D. et Bomer, H. (2008). Journée Technique d'information et de retour d'expérience de la gestion des sols pollués. Les Diagnostiques - Objectifs, enjeux & moyens. In Gouvernement de France. Ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie, [En ligne]. [http://www.developpementdurable.gouv.fr/IMG/pdf/etude\\_de\\_cas\\_TAUW.pdf](http://www.developpementdurable.gouv.fr/IMG/pdf/etude_de_cas_TAUW.pdf) (Page consultée le 18 juillet 2014).
30. **DAVIS et MADSEN, 1996.** Factors affecting the biodegradation of toluene in soil. *Chemosphere*, vol 33 N 1, pp 107-130.
31. **DROUET Th., 2010.** Pédologie. Université libre de Bruxelles. BING-F-302.
32. **DUCHAUFOR P.,** 2001. Introduction à la science du sol. Dunod, Paris.
33. **DUCHAUFOR, P.** 1984. Abrégés de pédologie. Ed. Masson. Paris, 220 p.
34. **ERIKSSON M,** Sodersten E, Yu Z, Dalhammar G and Mohn W. 2003. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons at low temperature under aerobic and nitrate-reducing conditions in enrichment cultures from northern soils. *Appl. Environ. Microbiol.* (69)1:275-284.
35. **EYSSAUTIER J., 2012.** Caractérisation et Modélisation des Asphaltènes en Conditions Réactionnelles d'Hydrotraitement. Thèse de Doctorat. Institut Français du Pétrole Energies nouvelles. France.

36. **FATTAL P., 2008.** Pollutions des cotes par les hydrocarbures. Presses universitaires de Rennes. (France) ISBN 978-7535-0566-7.
37. **FINNERTY, W.R., 1977.** The biochemistry of microbialalkane oxidation: new insights and perspectives. *Trends in Biochemical Sciences* 2, 73-75.
38. **FINNERTY, W.R., 1988.** Lipids of Acinetobacter. In: *Proceeding of the World Conference on Biotechnology for Fats and Oil Industry*, 184-189.
39. **GIBSON J, HARWOOD CS.** 2002. Metabolic diversity in aromatic compound utilization by anaerobic microbes. *Annu. Rev. Biochem.* 56: 345-369.
40. **GIBSON, D.T. et SAYLER, G.S. 1992.** Scientific Foundation for Bioremediation: Current Status and Future Needs. American Academy of Microbiology, Washington, DC., USA.
41. **GIRARD M., Walter C., Remy C., Berthelin N., More L. 2005.** Sol et environnement, exercices et étude de cas. Dunod. France.
42. **GOBAT J M, ARAGNO M, MATTHEY W. 2003.** Le sol vivant- Bases de pédologie- Biologie des sols. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, Suisse, 592p.
43. **GRUND, A., SHAPIRO, J., FENNEWALD, M., BACHA, P., LEAHY, J., MARKBREITER, K., NEIDER, M. AND TOEPFER, M., 1975.** Regulation of alkane oxidation in *Pseudomonas putida*. *Journal of Bacteriology* 123: 546-556.
44. **GUERMOUCHE A., 2014.** Caractérisation moléculaire de bactéries impliquées dans la biodégradation des hydrocarbures. Thèse doctorat. Université d’Oran.
45. **HANNA K.** 2004. Étude de faisabilité de l’utilisation de molécules “cage” dans la dépollution des sols : solubilisation et extraction de polluants organiques par les cyclodextrines. Thèse doctorat. Université Lyon. France.
46. **HAZEN T.C., 2010.** Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
47. **HENAO-VALENCIA L., 2008.** Etude des bases moléculaires de l’agrégation des sols par des exo polysaccharides bactériens. Thèse de Doctorat. Université JOSEPH FOURIER – Grenoble 1 (France).
48. **HUANG, X.D., El-Alawi, Y., Penrose, D.M., Glick, B., Greenberg, B.M., 2004.** A multiprocess phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Environmental Pollution* 130, 465-476.
49. **JAMES G. SPEIGHT, Karuna K. Arjoon . 2012.** Bioremediation of Petroleum and Petroleum Products. Ed.WILEY.592.p.

50. JANCOVICI J-M., 2011. Pétrole Gaz Charbon et autres carboneries.
51. JAYR E, BELKESSAM L, DAUBIES K, LORS C, DESCHÊNES L, GOURDON R., 2000. Behaviour and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in chalky environment: sorption and biodegradation. 17<sup>th</sup> International Symposium on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, 25-29 October, Bordeaux, France.
52. KHAN S, AFZAL M, IQBAL S, KHAN Q. 2013. Plant–bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils. *Chemosphere* 90 (2013) 1317–1332.
53. KLIMKOWICZ P-A et MALISZEWSKA K-B., 2003. Effect of anthracene and pyrene on dehydrogenases activity in soils exposed and unexposed to PAHs. *Water, air, and soil pollution*, 145, p.169-186.
54. KOLLER-E., 2009. Traitement des pollutions industrielles : eau, air, déchets, sols, boues. Dunod, Paris.
55. KSIEZOPOLSKA A. 2002. Physico-chemical characterization of organic-mineral complexes. World Congress of Soil Science, 17<sup>th</sup>, 14-21 August 2002, Thailand.
56. LARPENT J.P. et SANGLIER J.J., (1989). Biotechnologie des antibiotiques. Ed. Masson, Paris 481 p.
57. LECOMTE P, 1995. Les sites pollués : traitement des sols et des eaux souterraines. Edition technique et documentation, Paris.
58. LEMIERE B ; SEGUIN JJ ; Le GUERN C ; GUYONNET D ; BARANGER PH ; 2001. Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes. Ed BRGM. France.
59. MAES E, SCHADECK S et BRAHY V., sd. La contamination locale des sols. Portail d'environnement Wallonie.
60. MECKENSTOCK RU, SAFINOWSKI M, GRIEBLER C. 2004. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiol Ecol* 49: 27-36.
61. MERMOUD A., 2006. Cours de physique du sol : régime thermique du sol. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne. (Suisse).
62. 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: les biopuces ADN. Thèse Doctorat. Université Blaise Pascal. France.

63. MOHN W., Stewart, G.R., 2000. Limiting factors for hydrocarbon biodegradation at low temperature in Arctic soils. *Soil Biology and Biochemistry* 32 (8–9), 1161–1172.
64. MULLIGAN CN et YONG RN. 2004. Natural attenuation of contaminated soils. *PubMed*. 30(4):587-601.
65. NIEDER, M. et SHAPIRO, J., 1975. Physiological function of *Pseudomonas putida* PpG6 (*Pseudomonas oleovorans*) alkane hydroxylase: Monoterminal oxidation of alkane and fatty acids. *Journal of Bacteriology* 122, 93-98
66. PAUL E. A. et CLARK F. E., 1996. *Soil microbiology and biochemistry*. 2nd edition. Academic Press. San Diego, California (USA), 340.
67. PERRY J.J., STALEY J.T et LORY S., (2004). *Microbiologie*. Edition Dunoud.
68. QUENEA K., 2004. Etude structurale et dynamique des fractions lipidiques et organiques réfractaires de sols d'une chronoséquence forêt/maïs (CESTAS, Sud ouest de la France). Thèse de Doctorat. Université de Paris 6 (France).
69. RISER-ROBERTS E, 1998. Remediation of petroleum contaminated soils: biological, physical & chemical processes. Editions Lavoisier. France.
70. ROBERT, M. 1996. Le sol : interface dans l'environnement, ressource pour le développement. Ed. Masson. 244 p.
71. Roger P, Jacq V. 2000. Introduction à la bioremédiation des sols, des eaux et de l'air. Université de Provence Aix-Marseille 1. 99p.
72. RUELLAN A, POSS R, (s.d.), Les sols pour l'avenir de la planète Terre, Association française pour l'étude des sols, 16 p.
73. SESSITSCH, A., WEILHARTER, A., GERZABEK, M.H., KIRCHMANN, H. et KANDELER, E. 2001. Microbial population structures in soil particle size fractions of a long-term fertilizer field experiment, *Appl Environ Microbiol*, 67, 4215-4224.
74. SHELTON D R., et Tiedje, J.M. 1984. Isolation and Partial Characterization of Bacteria in an Anaerobic Consortium That Mineralizes 3-Chlorobenzoic Acid. *Appl. Environ. Microbiol*, 48: 840-848.
75. SIMS, R.C. 1990. Soil Remediation Techniques at Uncontrolled Hazardous Waste Sites. *Air Waste Mgmt. Assoc*, 40(5): 703-732.

76. **SNEZANA M**, Božo D et Srđan R. 2013. Petroleum Hydrocarbon Biodegradability in Soil – Implications for Bioremediation. INTECH. ISBN 978-953-51-0927-3.
77. **SOLTANI M.**, 2004. Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse de doctorat de l'université Paris 6, spécialité chimie analytique, p. 284.
78. **SOLTNER D.**, 1992, Les bases de la production végétale ; 19ème Edition ; Collection Sciences et techniques agricoles.
79. **SOULAS G., CODACCIONI P. & FOURNIER J. C.**, 1983. Effect of cross treatment on the subsequent breakdown of 2,4-D, MCPA and 2,4,5-T in the soil. Behaviour of the degrading microbial populations. *Chemosphere*, 12 (7/8):1101-1106.
80. **SPAIN J.C.**, 1990. Enhanced biodegradation of pesticides in the environment: Microbial adaptation in aquatic ecosystems. A.C.S. Symposium Series.
81. **STONER D.L.** 1993. Biotechnology for the Treatment of Hazardous Waste. CRC Press Reference, Florida, 256p.
82. **SVETLANA T, et ANYA S**, 2005. LE PÉTROLE. Guide de l'énergie et du développement à l'intention des journalistes. Open Society Institute.
83. **TISSOT BP; WELTE D H.** 1984. Petroleum formation and occurrence. Springer. Berlin.
84. **TRUDGILL, P.W.**, 1978. Microbial degradation of alicyclic hydrocarbons, In: Watkinson, R.J. (Ed.), Development in biodegradation of hydrocarbons-1. Applied Science publishers LTD London. Chapitre 2, pp: 47-84.
85. **VANDECASTEELE J P**, 2005. Microbiologie pétrolière Concepts. Implications environnementales. Applications industrielles. Editions Technip.
86. **VOGEL T et BELLERINI D.**, 2001. Biorestauration des sols et des aquifères contaminés par des hydrocarbures et des composés hallogénés. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, 16(3) :204-209.
87. **WALWORTH, J., BRADDOCK, J. et WOOLARD.**, 2001. Nutrient and temperature interactions in bioremediation of cryic soil. *Cold Region Science and Technology* 32, 85-91.

## ***Annexes***

---

**Annexe.1- Echelle de la salinité en fonction de la conductivité électrique de l'extrait 1/5 (sol/eau) (AUBERT, 1978).**

Classes	Catégories	CE (dS/m) à 25C
1	Sol non salé	CE < 0.6
2	Sol peu salé	0.6 < CE < 02
3	Sol salé	02 < CE < 2.4
4	Sol très salé	2.4 < CE < 06
5	Sol extrêmement salé	CE > 06

**Annexe. 2- Echelle d'interprétation des résultats de pH de l'extrait 1/5 de sol (SOLTNER, 1989).**

pH	5 à 5,5	5,4 à 5,9	5,9 à 6	6 à 6,5	7,3 à 8	> 8
Classes	Très acide	Acide	Légèrement acide	Neutre	Alcalin	Très alcalin

**Annexe. 3- Suivi de la concentration en carbone organique total dans le sol sableux au cours de l'expérimentation.**

	S T% (aéré+humidifié)	S BS%	S BG+BS%
non contaminé	1.2	1.2	1.2
Contaminé	3.1	3.1	3.1
Semaine 1	2.45440503	2.42936558	2.45706535
2	2.44655854	2.40071064	2.42841042
3	2.30614935	2.42363459	2.27080826
4	2.38351768	2.34340077	2.13708522
5	2.15714368	2.0539859	1.92312836
6	2.15373278	2.02533096	1.9193077
7	2.15236785	2.09123732	1.93050032
8	2.08293312	1.90784572	1.80468795



**Annexes. 4- Suivi de la concentration en carbone organique total dans le sol limoneux fin argileux au cours de l'expérimentation.**

	L.A T% (aéré+humidifié)	L.A BS%	L.A BG+BS%
Non contaminé	1.4	1.4	1.4
Contaminé	2.7	2.7	2.7
Semaine 1	2.45053585	2.59747454	2.56287466
Semaine 2	2.43127591	2.33766978	2.35390758
Semaine 3	2.21731904	2.46948249	2.18579861
Semaine 4	2.21731904	2.37205571	2.30328386
Semaine 5	2.16860565	2.03679294	2.04252393
Semaine 6	1.95273846	2.05112041	1.99954152
Semaine 7	1.94127648	2.03965843	2.0998338
Semaine 8	1.80850861	1.77603301	1.96085736

**Annexes. 5- Suivi de la charge bactérienne dans le sol sableux en ( $10^8$ UFC /ml) au cours de l'expérimentation.**

temps	ST (aéré+humidifié)	S BS	S BG+BS
Semaine 1	45.2878788	62.5606061	63.1666667
Semaine 2	36.7575758	67.8636364	87.8636364
Semaine 3	64.3787879	70.7424242	68.7727273
Semaine 4	85.259552	96.9545455	191.954545
Semaine 5	181.19697	198.166667	262.712121
Semaine 6	194.681818	192.409091	263.469697
Semaine 7	206.954545	258.924242	304.530303
Semaine 8	214.075758	301.80303	309.681818

**Annexes. 6- Suivi de la charge bactérienne dans le sol limoneux fin argileux en ( $10^8$ UFC /ml) au cours de l'expérimentation.**

temps	L.A T (aéré+humidifié)	L.A BS	L.A BG+BS
Semaine 1	103.318182	138.772727	73.0151515
Semaine 2	110.742424	176.045455	67.7121212
Semaine 3	135.590909	181.954545	144.681818
Semaine 4	158.772727	187.560606	182.106061
Semaine 5	281.348485	411.5	435.439394
Semaine 6	536.954545	509.227273	454.075758
Semaine 7	552.560606	517.257576	595.287879
Semaine 8	617.863636	631.80303	614.530303

**Annexes. 7- Suivi de la BDO dans le sol sableux en (mg/L) au cours de l'expérimentation.**

	S T (aéré+humidifié)	S BS	S BG+BS
semaine1	20	20	20
semaine 2	30	30	20
semaine 3	30	20	30
semaine 4	20	20	30
semaine 5	20	40	60
semaine 6	40	40	60
semaine 7	40	50	60
semaine 8	50	60	70

**Annexes. 8- Suivi de la BDO dans le sol limoneux fin argileux en (mg/L) au cours de l'expérimentation.**

	L.A T (aéré+humidifié)	L.A BG+BS	L.A BS
semaine1	20	30	30
semaine2	40	20	30
semaine3	20	30	30
semaine4	20	30	30
semaine5	70	40	40
semaine6	70	60	70
semaine7	120	110	100
semaine8	100	110	120

**Annexes. 9- Suivi de pH dans le sol sableux au cours de l'expérimentation.**

	ST (aéré+humidifié)	SBS	SBG+BS
non contaminé	8.1	8.1	8.1
semaine 1	7.02	7.28	7.11
semaine 2	6.57	7.203333	6.88666667
semaine 3	6.51	7.193333	6.96666667
semaine 4	6.505	7.183333	6.94
semaine 5	6.485	7.143333	6.71666667
semaine 6	6.365	6.91	6.77333333
semaine 7	6.205	6.473333	6.56666667
semaine 8	6.35	6.526667	6.52333333

**Annexes. 10- Suivi de pH dans le sol limoneux fin argileux au cours de l'expérimentation.**

	L.A T (aéré+humidifié)	L.A BS	L.A BG+BS
non contaminé	6.03	6.03	6.03
semaine 1	5.316667	5.45	5.033333
semaine 2	5.873333	5.17	5.333333
semaine 3	5.536667	5.066667	4.936667
semaine 4	5.433333	5.046667	4.906667
semaine 5	5.103333	5.03	4.986667
semaine 6	5.096667	4.893333	4.823333
semaine 7	4.826667	4.786667	4.76
semaine 8	4.793333	4.743333	4.706667