

République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université de Mhammed Bouguerra
Faculté des sciences de Boumerdes
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Ecologie et environnement
Spécialité : Biodiversité et environnement

Thème

**La bioremediation et la phytoremediation
des sols pollués par les hydrocarbures.**

Réalisé par

M^{elle} : BOUYAHIAOUI Abir

et

M^{elle} : MERDAS Hadia

Devant le jury composé de :

M^r BELLOUT.Y

MCB

UMBB

Promoteur

M^r LATRECHE.K

MDC

UMBB

Président

M^{me} BENHABILES.K

MAA

UMBB

Examinatrice

Promotion 2019/2020

Dédicaces

Je dédie ce travail

A toi maman « Fatiha Haddau » le moment que tu es là je n'ai besoin de rien, ta présence seule me suffit, et ton sourire seule me comble. ta voir à mes côtes vaut pour moi tous l'or du monde.

A toi mon cher papa « Noredine », autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A la mémoire de mon amie Hanane J'aurais tant aimé que tu soit présente. Que Dieu ait ton âme dans sa sainte miséricorde .

Aux être les plus chers à mon cœur mes sœurs Amira, Ibtissem, Ichrak, et à mon petit frère Siradj Eddine.

A ma chère binôme « Hadia » et à toute sa famille.

A mes cousine exceptionnelles Nesrine, Nesrine, Lamia, Meryem et à mes plus chères copines, Asma, Imane, Lamia, Rym, Khadidja, Racha, Zineb, Manel, Ahlem, Sihem. ainsi tous ceux qui m'ont aidé et tous ceux qui me connaissent de près ou de loin.

Et en fin à tous mes enseignants depuis la première année qui grâce à eux que nous sommes arrivé à ce stade là.



ABIR

Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce travail de memoire:

À celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs,

Son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui,

***ma mère** tu représente pour moi le symbole de la bonté par excellence,
l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier
pour moi.*

*A mes frères **Walid** et **Zian** et ma sœur **Rahma** qui n'ont cessé d'être pour
moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité*

*a mon chère amie et mon binôme **Abir** Ta compréhension et ta patience.*

*A toutes mes chères amies et mes cosins particulièrement : **Rym** , **Zineb**
et **Rachida***

*A toute la famille et a toutes personnes qui ont contribué à la réalisation
de ce travail.*

Enfinement, A tous mes collègues et amies de la promotion 2020.



Hadia

Remerciements

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination. Ces cinq années nous ont permis de bien comprendre la signification de cette phrase toute simple. Ce parcours en effet, ne s'est pas réalisé sans défis et sans soulever de nombreuses questions pour lesquelles les réponses nécessitent de longues heures de travail.

Avant tout nous tenons à remercier le bon Dieu tout puissant qui nous a donné force, Courage et patience pour élaborer, préparer, et présenter ce modeste travail.

*On tien également a exprimer nos plus sincères remerciements a notre promoteur Mr **BELLOUT** pour tous les précieux conseils, l'aide et le temps qu'il bien voulu nos consacrer.*

Nous remercions également les membres du jury qui nous ferons l'honneur de lire et d'évaluer notre travail.

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

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

B : Bacillus

BA : Bioaugmentation

BS : Biostimulation

C : Carbone

CG : Chromatographie en phase gazeuse

COV : Composés organiques volatils

Fl : Fluorène

Flu : Fluoranthène

G : Gramme

H : Hydrogène

HAP : Hydrocarbures Aromatique Polycycliques

HC : Hydrocarbures

HPT : Hydrocarbures Pétroliers Totaux

Kg : Kilogramme

M : Microcosmes

Nd : Non déterminer

Nox : Oxyde d'azote

°C : Degré celsius

p : Pseudomonas

PH : Potentiel Hydrogène

Phen : Phénanthrène

Pyr : Pyrène

SM : Spectrométrie de masse

Ufc : Unité formatrice de colonies

APX : Ascorbate peroxydase

CAT: Catalase

Cd : Cadmium

DAB : Diaminobenzidine

g/ml : Gramme / millilitre

GSH : Glutathione réduit

H : Hydrogène

H₂O₂ : *peroxyde* d'hydrogène

HAM : Hydrocarbures aromatiques monocycliques

IARC : Agence international de recherche sur le cancer

m³ : Mètre cube

MDA : Malondialdéhyde

Mg/kg⁻¹ : Milligramme par kilogramme

mM : millimole

P: Pascal

Pb : Plomb

Phe : Phénanthrène

POD : Peroxydase

Pyr : Pyrène

SOD : Superoxyde dismutase

US-EPA : Agence de protection environnementale

Zn : Zinc

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Formation des hydrocarbures (<i>ULaval, 2008</i>).	03
2	Structure moléculaire d'un hydrocarbure : l'octane (C ₈ H ₁₈)	04
3	Représentations des 16 HAP prioritaires retenus par l'US-EPA (Nguemte, 2019)	06
4	Devenir des hydrocarbures dans l'environnement (Pierre et Vincent, 2000)	08
5	Triangle de la biodégradation (Suthersan, 1997)	11
6	Dégradation d'un hydrocarbure en milieu aérobie	12
7	Dégradation d'un hydrocarbure en milieu anaérobie.	12
8	Combinaison bioaugmentation biostimulation (da Silva <i>et al.</i> , 2020)	19
9	Schéma de principe du landfarming. (Source : BRGM)	20
10	Chaînes de spores de bactéries Streptomyces. (source: Kim Findlay et Siobhan Dorai-Raj, Centre John Innes année).	22
11	les champignons du sol (<i>Jean-Michel Groultannée</i>).	23
12	Mode d'action des plantes sur les polluants des sols. (Morel, 2012).	26
13	Pourcentage de dégradation du phénanthrène des différents systèmes de culture bactérienne .(Fazilah <i>et al.</i> , 2020)	30
14	Dégradation des HPT par biostimulation et bioaugmentation (Wu <i>et al.</i> , 2016)	32
15	L'effet de phénanthrène sur La germination et la longueur des racines de plante <i>Arabidopsis thaliana</i> ..	34
16	L'effet de différentes concentrations de phénanthrène sur la germination d' <i>Arabidopsis thaliana</i>	34
17	Les niveaux de chlorophylle a, b et (a+b) d' <i>Arabidopsis thaliana</i> en fonction des doses au phénanthrène.	35
18	L' Effet de divers niveaux de phénanthrène sur (A) la superoxyde dismutase (SOD); (B) la catalase (CAT); (C) la peroxydase (POD); (D) la peroxydase d'ascorbate (APX) des feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après 30 jours de traitement.	36
19	L'effet de divers niveaux de phénanthrène sur le GSH dans les feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après 30 jours de traitement.	36
20	L'effet de divers niveaux de phénanthrène sur la teneur en H ₂ O ₂ au niveau des feuilles d' <i>Arabididopsis thaliana</i> .	37
21	Coloration par la technique (DAB) des tissus foliaires d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après un traitement de 14 jours au phénanthrène.	37

22	la teneur de Malondialdéhyde (MDA) dans les feuilles d' <i>Arabidopsis thaliana</i> après 30 jours de traitement	38
23	Effet des HAP et des bactéries dégradant les HAP sur (a) la biomasse et (b) la teneur en eau de riz (<i>Oryza sativa.L</i>).	39
24	Effet des HAP et des bactéries dégradant les HAP sur (a) la teneur en chlorophylle et (b) la rapport chlorophylle a/b dans le riz (<i>Oryza sativa.L</i>).	40
25	Effet des HAP et des bactéries dégradant les HAP sur l'activité (a) de la SOD et (b) de la POD dans le riz (<i>Oryza sativa.L</i>).	41
26	Effet des HAP dans le sol et des bactéries dégradant les HAP sur la teneur en (a) glucides solubles et (b) de protéines solubles dans le riz (<i>Oryza sativa.L</i>).	42

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Composition chimique des principaux hydrocarbures pétroliers. (Nguemte, 2019)	05
02	les principaux facteurs affectant la biodégradation dans le sol	13
03	Des données toxicologiques sur les 16 HAP (Crone, 2001).	16
04	l'abondance et la biomasse des organismes vivants du sol d'après (Gelin et Stengel, 1998).	21
05	les modes d'action de la phytoremédiation	25
06	Résumé du pourcentage de dégradation des HAP	29
07	Les Sept systèmes bactériens utilisés dans le cadre d'une étude sur la biodégradation du phénanthrène	30
08	Analyses de variance des effets des HAP dans le sol et des bactéries dégradant les HAP sur 10 paramètres dans le riz	39

Sommair :

Introduction.....	01
-------------------	----

RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITES SUR LES HYDROCARBURES

I.1. Genèse des hydrocarbures.....	03
I.2. Définition des hydrocarbures.....	04
I.3. Classification des hydrocarbures.....	04
A) Les hydrocarbures Aliphatique.....	05
B) Les hydrocarbures alicyclique.....	06
C) Les hydrocarbures aromatiques	06
D) Composés polaire.....	06
E) Les asphaltènes.....	07
F) Les résines.....	07.
I.4. Propriétés physiques des hydrocarbures.....	07
I.5. Devenir des hydrocarbures dans le sol.....	08
I.5.1. Facteurs abiotiques dans l'élimination des hydrocarbures.....	09
I.5.1.1. Volatilisation.....	09
I.5.1.2. Emulsification.....	09
I.5.1.3. Photooxydation.....	09
I.5.1.4. Sédimentation.....	09
I.5.1.5. Sorption.....	09
I.5.1.6. Solubilisation.....	10
I.5.2. Facteur biotique dans l'élimination des hydrocarbures.....	10
I.5.2.1. Biodégradation.....	10
I.5.2.1.1. LA Biodégradation des HAP.....	10
I.5.2.1.2. Voies de dégradation selon le milieu.....	11
I.5.2.1.3. Conditions de la biodegradation.....	12
I.6. Toxicité des hydrocarbures.....	14
I.6.1. L'effet toxique des hydrocarbures sur le sol.....	15
I.6.2. Toxicité des hydrocarbures sur l'homme.....	15

II. Techniques de décontamination d'un sol pollué par les hydrocarbures.....16

II.1. Méthode physique.....	16
II.2. Méthode chimique.....	16
II.3. Méthode thermique.....	17
II.4. Méthode biologiques.....	17
II.4.1. la bioremédiation.....	17

II.4.1.1. Historique de la bioremédiation.....	17
II.4.1.2. Définition principe de la bioremédiation.....	17
II.4.1.3. Les principales technologies utilisées dans la bioremédiation.....	18
II.4.1.3.1. Techniques in-situ.....	18
II.4.1.3.2. Techniques ex-situ.....	20
II.4.1.4. Organismes effectuant la bioremédiation.....	21
a) Les Bactéries	21
b) Les Actinomycètes	22
c) Les champignons.....	22
d) Les algues.....	23
II.4.2. La phytoremédiation.....	23
II.4.2.1. L’historique de la Phytoremédiation.....	23
II.4.2.2. principe de phytoremédiation.....	24
II.4.2.3. les modes d’actions de la phytoremédiation.....	24
- Phytoextraction.....	25
- Rhizofiltration.....	25
- Phytostabilisation.....	25
- Phytodégradation.....	26
- La phytovolatilisation.....	26
II.4.2.4. Avantage et limites de la Phytoremédiation.....	26

RESULTATS ET DISCUSSION

I. La bioremédiation et la phytoremédiation.....	28
I.1. Quelques travaux réalisés sur la bioremédiation.....	28
I.1.1. Dégradation du fluorène et du phénanthrène dans les sols contaminés par les HAP à l'aide de souches de Pseudomonas et de Bacillus isolées des sites de déversement d'hydrocarbures.....	28
I.1.1.1 Préparation de l’inoculum.....	28
I.1.1.2 Les résultats d’élimination des HAP	28
I.1.2. La dégradation de phénanthrène par la technique de bioaugmentation ...	29
I.1.2.1. Isolement et caractérisation des bactéries du sol.....	30
I.1.2.1. Les résultats de la dégradation de phénanthrène par la technique de bioaugmentation	30
I.1.3. l’efficacité de bioremediation par la combinaison de bioaugmentation et de biostimulation.....	31
I.1.3.1. Dégradation des hydrocarbures pétroliers totaux.....	31
I.2. Quelques essais réalisés sur la phytoremédiation.....	33
I.2.1. L’effet de phénanthrène sur la plante (Arabidopsis thaliana).....	33
I.2.1.1. Paramètre Physiologique	33

I.2.1.1.1. L'effet de phénanthrène sur la germination et les croissances des racines.....	33
I.2.1.1.2. l'effet de phénanthrène sur la teneur en chlorophylle a, b, totale.....	34
I.2.1.2. Paramètre biochimique	35
I.2.1.2.1. Changements de l'activité enzymatique antioxydante dans les feuilles traitées par le phénanthrène	35
I.2.1.2.2. Changements dans le GSH sous contrainte phénanthrène	36
I.2.1.2.3. Effets de phénanthrène sur les concentrations de H ₂ O ₂ au niveau des feuilles d' <i>Arabididopsis thaliana</i>	37
I.2.1.2.4. Effet du phénanthrène sur la peroxydation lipidique de la membrane foliaire.....	38

I.2.2. Effet de (phénathrène + pyrène) la plante de riz (Oryza Sativa L.).....38

I.2.2.1. Paramètre physiologique.....	38
I.2.2.1.1. l'effet de pyr et phe sur la biomasse et la teneur en eau de riz.....	38
I.2.2.1.2. effet de pyr et phénathrène sur la Teneur en chlorophylle et rapport chlorophylle a/b.....	40
I.2.2.2. Paramètre biochimique	40
I.2.2.2.1. effet de pyr et phe sur l'Activité des enzymes antioxydants (SOD , POD) de riz.....	40
I.2.2.2.2. L'effet des pyr et phe sur les glucides et les protéines solubles.....	41

Conclusion.....48

Références bibliographiques

Résumé

Introduction

Introduction

Le vingtième siècle aura été marquée par l'extraordinaire réussite de l'espèce humaine peut-être un peu trop." (He, 2005) Le monde, bénéficiant d'une industrialisation sans précédent, mais cette industrialisation rapide a eu sur l'environnement des conséquences qui ont été illustrées par des innombrables cas où les ressources en sols, en air et en eau ont été contaminées par des matières toxiques et d'autres polluants, mettant ainsi gravement en danger la santé des êtres humains et la salubrité des écosystèmes. Avec l'utilisation plus extensive et intensive des matières et de l'énergie, la qualité des écosystèmes locaux, régionaux et mondiaux a été soumise à des pressions cumulatives.(Spiegel et Maystre, 1998).

Les polluants environnementaux peuvent être organiques ou inorganiques. Quantitativement, les polluants organiques les plus préoccupants sont les hydrocarbures sous leurs différentes formes. Les plus courants sont les hydrocarbures de pétrole. (Chikere et al., 2011).

aujourd'hui La plupart des sources d'énergie nécessaires sont fournies par les hydrocarbures (pétrole, gaz..), et Le risque de pollution par ces composants a, en effet, ceci de particulier qu'il est une passerelle entre risques anciens (risques naturels) et nouveaux risques (risques technologiques) (Le Gentil, 2009). Le raffinage, le stockage et la distribution du pétrole brut et des produits pétroliers connexes sont tous des sources ponctuelles de pollution des sols et des eaux. (Chikere et al., 2011).

Les sols avec les milieux aquatiques et l'atmosphère sont les composants majeurs de la biosphère. A ce titre ils ont joué et jouent en permanence un rôle déterminant dans l'apparition et le maintien de l'activité biologique et de la biodiversité à la surface de la planète (Rainelli, 1996), toute pollution du sol affectera négativement sur ces activités, d'où la nécessité de rétablir cet équilibre perdu, grâce à plusieurs techniques.

Certaines de ces techniques, visent à immobiliser la pollution, d'autres à l'extraire ou à la détruire. On les classe généralement en trois familles : les traitements physiques, chimiques et biologiques. (Simonnot et al., 2008) Parmi les différentes techniques envisageables pour traiter des sols pollués par les hydrocarbures, les techniques biologiques suscitent actuellement un grand intérêt, (Costes et Druelle, 1997). Grâce à leurs faibles cout par rapport à celui de la méthode physico-chimique (Bois, 2010), Nous détaillerons donc davantage ces traitements en indiquant leurs principe

Dans le but d'améliorer nos connaissances sur les techniques biologiques destinées à la réhabilitation des milieux pollués par les hydrocarbures, nous avons entrepris une étude théorique sur la phytoremédiation qui consiste à « utiliser des plantes naturelles Pour améliorer la dégradation et l'élimination des contaminants dans les sol ou les eaux souterraines. » (Kamath et al., 2004) et la bioremédiation qu'est un processus qui

utilise des microorganismes pour dégrader ou éliminer différents polluants, tels que les composés organiques hydrocarbures et métaux lourds de l'environnement, (**feknous, 2017**). Le principal objectif de ce travail de recherche était donc la comparaison des travaux sur ces deux solutions de dépollution.

Ce document comporte deux parties . La première présente un rappel des Principales données bibliographique concernant les hydrocarbures, et la description de certaines techniques de réhabilitation des sols pollués par les hydrocarbures. Et dans le deuxième et dernière partie, nous Exposons et discutons l'ensemble des résultats des travaux des de plusieurs auteurs sur la phytoremédiation et la bioremédiation des sols pollué par les hydrocarbures.

Et enfin, nous clôturerons ce travail par une conclusion.

Rappel
Bibliographique

1. GENERALITES SUR LES HYDROCARBURES

I.1. Genèse des hydrocarbures

Les hydrocarbures constituent la fraction la plus importante d'un brut pétrolier, ils représentent entre 65 et 95 % de la plupart des pétroles bruts. (Soltani, 2004) Le total des hydrocarbures pétroliers ou les composants hydrocarbonés des bitumes arrivent dans les sols à partir de différentes sources naturelles et anthropiques. La fraction grossière provient de l'asphalte des rues et de la les pneus et les casses de voitures. Les fines particules apparemment proviennent de la combustion ou du chauffage central et sont transporté par le vent, comme Il peut s'agir d'hydrocarbures résultant de processus biogéochimiques dans le sol ou d'hydrocarbures provenant de couches pétrolifères profondes (Gennadiev *et al.*, 2015) et (Krein et Schorer, 2000).

La formation des hydrocarbures produit lors de la sédimentation de matières organiques végétales et animales et a leur enfouissement sous d'autres couches sédimentaires (figure 1) (Pimsee, 2014). Ces matières organiques soumises à la diagenèse, par une exposition prolongée à la décomposition microbienne suivie d'une augmentation des températures et des pressions. Les conditions pauvres en oxygène, produites par l'épuisement des niveaux locaux d'oxygène par la décomposition de la biomasse et souvent soutenues par des barrières physiques à la recharge en oxygène, sont des facteurs évidents pour la préservation de la matière organique fossile et son passage dans la géosphère (Sephton et Hazen, 2013). Ce pétrole en formation est moins dense que la roche qui l'entoure, il va donc migrer vers la surface. Si le pétrole est arrêté dans sa progression par des roches imperméables, il se concentre pour former des poches qui sont à l'origine des réservoirs actuels. (Pimsee, 2014).

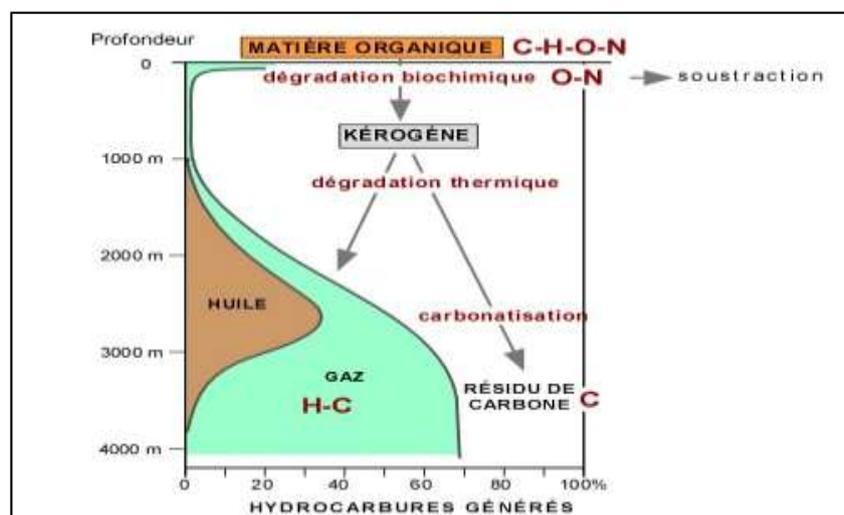


Figure 01 : Formation des hydrocarbures (ULaval, 2008).

I.2. Définition des hydrocarbures

Un hydrocarbure est un composé organique, contenant des atomes de carbone (C) et d'hydrogène (H), tous les hydrocarbures ont donc une formule de type C_nH_m . (Figure 02), (Schneider et Zerouali, 2016), Et parfois des constituants mineurs sont également présents dans les hydrocarbures pétroliers, comme des métaux et des composés polaires qui contiennent de l'azote, du soufre ou de l'oxygène. Les molécules polaires de faible masse moléculaire sont appelées résines ; les plus lourdes étant regroupées sous l'appellation d'asphaltènes. (Nguemte, 2019). ces composés peuvent être soit saturés lorsque la chaîne de carbone possède uniquement des liaisons simples ou ils peuvent être insaturés lorsque la chaîne de carbone est constituée d'au moins une liaison double ou triple. Les hydrocarbures peuvent également avoir trois enchainements, soit un enchainement linéaire, ramifié ou cyclique. (Belley-Vézina, 2014)

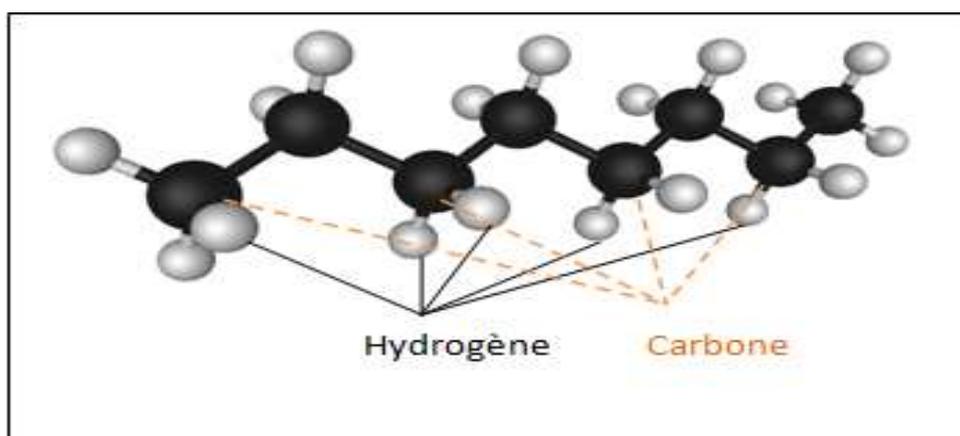


Figure 02 : Structure moléculaire d'un hydrocarbure : l'octane (C_8H_{18})

I.3. Classification des hydrocarbures

Le pétrole brut est un mélange complexe d'hydrocarbures de différentes familles (aliphatiques, alicycliques, aromatiques) comportant de 1 à 40 atomes de carbone, associés à des composés oxygénés, azotés et sulfurés ou métalliques. (Pimsee, 2014). Les molécules polaires de faible masse moléculaire sont appelées résines ; les plus lourdes étant regroupées sous l'appellation d'asphaltènes. Leur proportion varie selon l'origine des hydrocarbures et le raffinage des pétroles bruts (Le tableau 01) présente cette composition générale. (Nguemte, 2019)

Tableau 01: Composition chimique des principaux hydrocarbures pétroliers. (Nguemte, 2019)

Groupe	Composés	Unité	Essence	Diresel	Pétrole brut		Mazout intermédiaire	Mazout lourd n°6
					Léger	Lourd		
Alcanes	totaux		50-60	65-95	55-90	25-80	25-35	20-30
	Alcanes non cycliques		45-55	35-45	40-85	20-60	10-25	10-20
	cycloalcanes		5	25-50	5-35	0-10	0-5	0-5
Alcènes			5-10	0-10	-	-	-	-
Aromatiques	totaux	%	25-40	5-25	10-35	15-40	30-50	30-50
	BTEX		15-25	0,5-2,0	0,1-2,5	0,01-2,0	0,00-1,0	0,00-1,0
	HAP		-	0-5	10-35	15-40	30-50	30-50
Composés polaires	totaux		-	0-2	1-15	5-40	15-25	10-30
	résines		-	0-2	0-10	2-25	10-25	10-20
	asphaltènes		-	-	0-10	0-20	5-10	5-20
Métaux		Ppm	-	-	30-250	100-500	100-1000	100-2000
soufre		%	0,02	0,1-0,5	0-2	0-5	0,5-2	2-4

A) Les hydrocarbures Aliphatique

➤ Les hydrocarbures saturés

• Alcanes

Ce sont les hydrocarbures aliphatique a chaine carbone ouverte.de formule chimique générale C_nH_{2n+2} , (Cicolella, 2008) Parmi lesquels, on distingue :

* Les alcanes linéaires (*n*-alcanes, C_nH_{2n+2}), dont la longueur de chaîne varie de 7 à 40 atomes de carbone, constituent une des classes les plus abondantes (10 à 40 % des hydrocarbures totaux d'un brut pétrolier). (Soltani, 2004)

* Les alcanes ramifiés: les plus abondants sont les iso-alcanes (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 abondants. Ces composés se trouvent dans le pétrole brut à des proportions presque égales à celles des *n*-alcanes. (Nguemte, 2019)

➤ Les hydrocarbures insaturés

Selon (Colombano *et al.*, 2012) les hydrocarbures insaturés, formes de deux groupes:

- **Alcènes** : de formules générales C_nH_{2n} , ces composées (linéaire, cyclique ou ramifiés) comprennent une ou plusieurs liaisons double
- **Alcynes** : de formules générales C_nH_{2n-2} : ces composés (linaire, cyclique ou ramifiés) comprennent une ou plusieurs lisions triples.

B) Les hydrocarbures alicycliques

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

C) Les hydrocarbures aromatiques

Ils sont aussi appelés composés aromatiques ou simplement aromatiques. Leur molécule est formée d'au moins un cycle d'atomes de carbone du type de celui du benzène. (**Cicolella, 2008**) Les hydrocarbures aromatiques sont répartis en deux familles d'hydrocarbures insaturés: les hydrocarbures aromatiques monocycliques (HAM), à savoir le benzène, toluène, éthylbenzène, xylène (BTEX), et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). (**Nguemte, 2019**)

La famille des HAP comporte plus de centaines de composés, cependant, en raison de leurs effets préoccupants pour l'environnement et pour la santé humaine, seulement 16 HAP d'entre eux sont considérés comme prioritaires par US protection environmental Agency (US-EPA) (Figure 03), et ils font l'objet de contrôle et de suivi. (**Faham, 2013**)

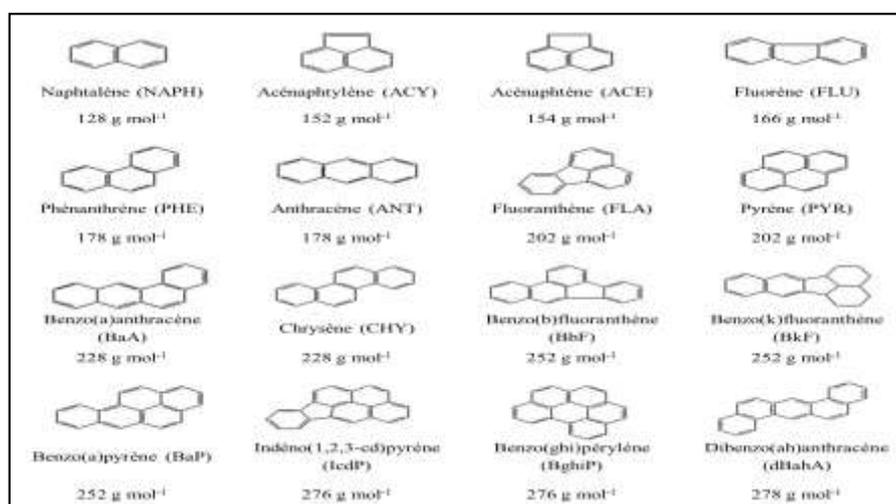


Figure 03 : Représentations des 16 HAP prioritaires retenus par l'US-EPA (**Nguemte, 2019**).

D) 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. (**Soltani, 2004**)

E) Les asphaltènes

Sont des constitués pars des composés hétérocyclique lourds et complexes, dont certains contiennent en particulier le nickel et le vanadium, qui sont maintenus en suspension micellaire dans le pétrole par les résines (des agrégats d'asphaltènes peuvent résulter d'un défaut de résines) et qui ont la propriétés de précipiter lorsque le pétrole est dilué par un grand volume de paraffine léger liquide (propane, butane, pentane, hexane ou heptane). **(Bocard, 2006)**

F) Les résines

Regroupent essentiellement les composés contenant un ou plusieurs hétéroatomes leur conférant un caractère polaire marqué qui se traduit par une rétention sélective sur des adsorbants de séparation chromatographiques ; ce sont principalement des composés oxygénés tels que Aldéhydes ,cétones, éthers cycliques et acides ,en particulier acides naphthéniques, ainsi que des composés azotés. **(Bocard, 2006)**

I.4. Propriétés physiques des hydrocarbures

Parmi les propriétés physiques importantes qui varient selon la composition des hydrocarbures, il y a :

- **La viscosité**

La viscosité des paraffines normales augmente avec le nombre d'atomes de Carbone.

Ceci résulte de l'augmentation des forces de cohésion intermoléculaire et des enchevêtrements qui empêchent les molécules de glisser les unes sur les autres. Les ramifications sur la chaîne principale évitent cet inconvénient (abaissement de point de congélation) mais diminuent en même temps la viscosité. **(Lefebvre, 1978)**

Chimie des hydrocarbures G.L

- **Densités**

La pluparts des hydrocarbures sont plus légers que l'eau .les ramifications ont peu d'influence sur la densité **(Lefebvre, 1978)** La plupart des hydrocarbures ont des densités comprises entre 0,7 et 0,99 g/ml a 15 °C. **(Nguemte, 2019)**

- **La solubilité**

La solubilité est la capacité d'une substance à se dissoudre dans la colonne d'eau. Cette propriété est importante chez les hydrocarbures, car certains, une fois solubilisés, peuvent être toxiques pour les organismes aquatiques **(Fingas, 2013)**, même à très faibles concentrations. Les hydrocarbures pétroliers les plus solubles sont essentiellement les composés aromatiques légers tels que le benzène. D'ailleurs, plus la proportion d'hydrocarbures légers sera importante, plus la solubilité du produit pétrolier dans l'eau sera significative. C'est ce qui explique les différences de solubilité entre les différents hydrocarbures pétroliers présenté dans. **(Gruyer, 2015)**.

- **Le point d'éclair**

C'est la température à laquelle un hydrocarbure émet assez de vapeur pour que celle-ci s'allume quand elle est exposée à une flamme. La majorité des hydrocarbures sont considérés comme inflammables, car leur point d'éclair est en dessous de 60 °C. Cependant, après une journée exposée à l'environnement, peu d'entre eux sont encore inflammables car les fractions légères se sont évaporées. (Gouhier, 2014).

- **Le point d'écoulement**

Température à laquelle un produit commence à s'écouler. Dans le cas des hydrocarbures, le produit devient semi-solide et ne coule plus en dessous de cette température. Plus la température baisse, plus les paraffines forment des structures cristallines qui compromettent l'écoulement. Cette propriété est fortement liée à la viscosité. Ainsi, plus le contenu en paraffines est faible, comme dans le cas des mazouts intermédiaires et lourds, plus les hydrocarbures seront caractérisés par un point d'écoulement élevé. (Nguemte, 2019)

I.5. Devenir des hydrocarbures dans le sol

Lorsque des hydrocarbures sont déversés dans l'environnement, différents processus d'altération ont lieu. Ces processus génèrent des changements des propriétés physicochimiques des hydrocarbures. Ces changements dépendent souvent des conditions environnementales et du type d'hydrocarbures déversés, soit de la composition chimique. (Gruyer, 2015). Les processus d'altération des hydrocarbures sont la volatilisation, l'émulsification, la photo oxydation, la sédimentation et sorption, la solubilisation, et la biodégradation. Le devenir des hydrocarbures dans l'environnement à la suite d'un déversement dépend de ces processus. (Figure04) .

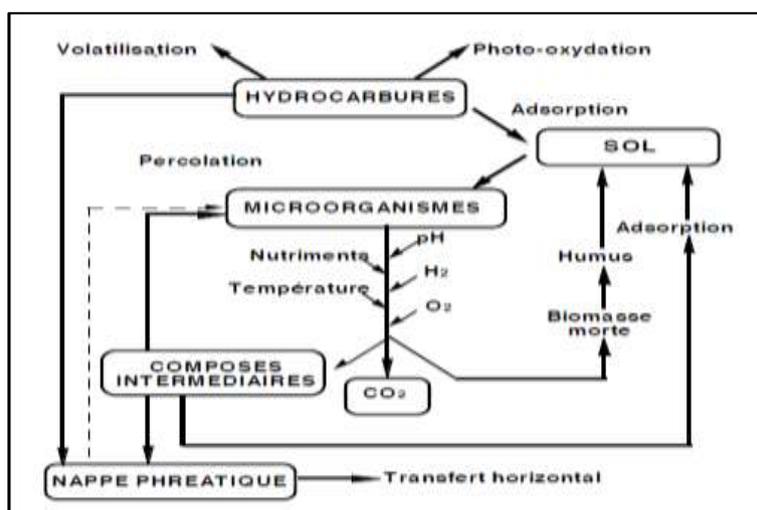


Figure 04: Devenir des hydrocarbures dans l'environnement (Pierre et Vincent, 2000)

I.5.1. Facteurs abiotiques dans l'élimination des hydrocarbures

I.5.1.1. Volatilisation

La plupart des hydrocarbures sont volatils ou semi-volatils, la volatilisation peut donc être un processus significatif dans l'atténuation naturelle des pollutions pétrolières. (Saada *et al.*, 2004), en particulier pour les hydrocarbures légers. En contact avec l'air, les molécules légères du produit pétrolier déversé se volatilisent pour les produits légers, la perte par évaporation peut s'élever à plus de 70 p contre 5-10 p, seulement pour les hydrocarbures lourds. (Colombano *et al.*, 2012)

I.5.1.2. Emulsification

Deux types d'émulsions peuvent se former : eau-dans-huile appelée "mousse Chocolat" et huile-dans-eau. Les émulsions eau-dans-huile sont constituées par des Hydrocarbures de haut poids moléculaires. Ces émulsions difficilement dégradables sont les précurseurs des résidus goudronneux retrouvés sur les plages, alors que les émulsions huile dans-eau facilitent l'élimination des hydrocarbures. (Guermouche, 2013)

I.5.1.3. Photooxydation

C'est un paramètre très importants à considérer lors de la dégradation des hydrocarbures pétroliers. La photooxydation produit de nombreux composés très solubles dans l'eau. (Colombano *et al.*, 2012) ce phénomène est observé au niveau de la surface de l'eau où l'air (oxygène) et la lumière (radiations solaires) sont présents pour la transformation des hydrocarbures. L'efficacité de ce phénomène dépend de la nature des hydrocarbures et de la présence de composés non hydrocarbonés. Ainsi, la photooxydation touche plus particulièrement les composés aromatiques qui sont plus photosensibles que les composés aliphatiques. (Soltani, 2004)

I.5.1.4. Sédimentation

La sédimentation est le passage du pétrole de la surface vers le fond. Ce phénomène concerne les résidus goudronneux constitués de la fraction pétrolière la plus lourde et dont la densité est supérieure à celle de l'eau de mer. La sédimentation conduit à la constitution d'agrégats de haute densité difficilement dégradable par voie naturelle. (Soltani, 2004).

I.5.1.5. Sorption

Le processus de sorption sur un matériau poreux de type sol comprend :
L'adsorption englobe les processus par lesquels un soluté est lié à la surface d'un solide. Un cation peut être attiré vers une région proche d'une surface argilo minérale chargée négativement et s'y lier par des forces électrostatiques ; c'est la fixation par échange de cation. **La chimisorption** apparaît quand le soluté est incorporé sur le sol par réaction chimique. **L'absorption** : intervient quand les particules poreuses de

l'aquifère permettent au soluté, sa diffusion intra particulaire puis sa sorption sur les surfaces intérieures des particules (**Perrodin, 2004**)

I.5.1.6. Solubilisation

La quantité d'hydrocarbures se dissolvant dans l'eau va dépendre de la structure moléculaire de la polarité et de la solubilité des composés. de manière générale les hydrocarbures aromatique sont plus soluble que les hydrocarbures aliphatiques, la solubilisation diminue avec le nombre de carbone et les hydrocarbures les plus légers sont les plus solubles, ainsi en contact avec l'eau , ces molécules sont éliminer par lessivage ou dissolution (**Colombano et al., 2012**)

I.5.2. Facteur biotique dans l'élimination des hydrocarbures

I.5.2.1. Biodégradation

La biodégradation est le processus le plus important qui change la composition des hydrocarbures Celle-ci dépend a la présence des microorganismes aptes a la biodégradation de ces composés aussi les facteurs de croissance (l'oxygène, les nutriments...) Qu'ils ont un rôle pour la dynamique des microorganismes. (**Colombano et al., 2012**) les hydrocarbures facilitent le transfert entre les donneurs et les accepteurs en résultera une oxydation du donneur d'électrons (en générale la matière organique et les hydrocarbures) et une réduction de l'accepteur d'électrons (composés oxydés tels que l'oxygène , les nitrates..)(**Saada et al., 2005**)

I.5.2.1.1. LA Biodégradation des HAP

Divers chercheurs ont identifié les HAP comme une sous-classe de polluants organiques persistants. (**Gbeddy et al., 2020**), en raison de leur stabilité relative dans l'environnement. Certains microorganismes du sol, en particulier des bactéries, sont capables d'obtenir de l'énergie via le métabolisme des polluants du sol tels que les HAP. (**Díaz, 2004**).

Selon (**Johnsen et al., 2005**) Ils ont développé des stratégies pour utiliser ces molécules comme sources de carbone et d'énergie, assurant la détoxification de l'environnement, ou pour les transformer en substrats métabolisables par d'autres microorganismes.

La dégradation microbienne des HAP a été décrite par plusieurs chercheurs. En général, « Les enzymes impliquées sont spécifiques au composé et la présence de différents microorganismes peut être requise pour effectuer la biodégradation de tous les HAP compris dans un site contaminé. La biodégradation en condition aérobie est celle qui est la plus pratiquée. Sommairement, la dégradation des HAP est initiée par l'incorporation d'oxygène dans les anneaux par des enzymes (oxygénases) produites par les microorganismes. Après cette étape limitante de la réaction, la biodégradation procède de façon plus rapide et l'accumulation d'intermédiaires, s'il y en a, est peu importante » (**Deschênes, 1995**).

Une biodégradation Complète parvient à détoxifier des polluants jusqu'à au stade du dioxyde de carbone, de l'eau et des sels minéraux inoffensifs. Une biodégradation

incomplète peut fournir des produits de dégradation moins toxiques que le polluant initial, mais pas forcément. (abdelly, 2007).

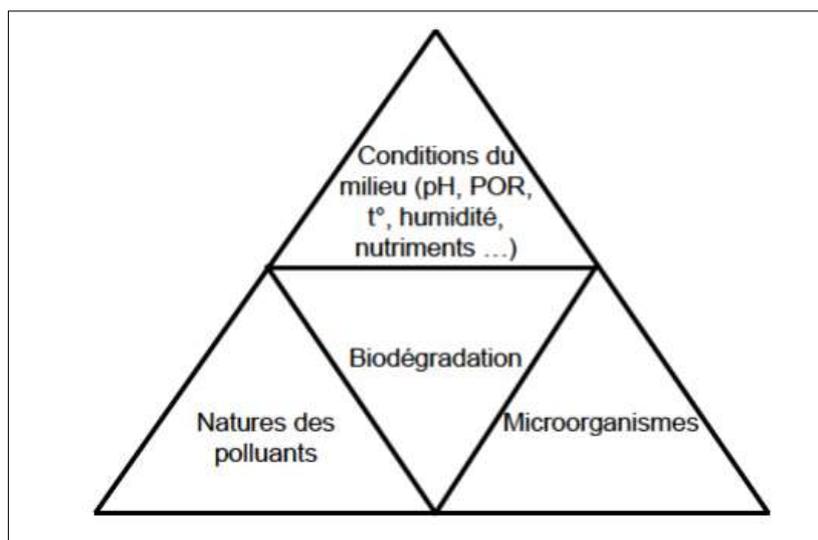


Figure 05 : Triangle de la biodégradation (Suthersan, 1997)

I.5.2.1.2. Voies de dégradation selon le milieu

Les bactéries se développent dans diverses conditions selon leurs caractéristiques. La biodegradation peut se manifester par deux milieux différents:

- **En milieu aérobie**

Les mécanismes impliqués dans la biodégradation des HAPs par voie aérobie débutent le plus souvent par l'oxydation de l'un des cycles benzéniques par une dioxygénase, c'est à dire par la création de liaisons comportant un atome d'oxygène avec l'un des carbones du cycle. Cette attaque enzymatique conduit à la formation de cis-dihydrodiol-HAPs (fonctions alcools du même côté du cycle). Le cycle aromatique est ensuite ouvert par incorporation d'une autre molécule d'oxygène et peut alors être entièrement dégradé. De la même manière, tous les cycles sont alors dissociés et dégradés les uns après les autres pour conduire à des intermédiaires à simple cycle, comme l'acide benzoïque, l'acide salicylique, l'acide phtalique ou le catéchol (Trably, 2002).

En aérobie, les hydrocarbures aromatiques polycycliques de faible poids moléculaires, c'est-à-dire ne comportant qu'environ 2 à 3 cycles aromatiques, peuvent suffire à la croissance de certaines souches bactériennes. (Técher, 2011.) Celles-ci utilisent donc les hydrocarbures comme source de carbone et d'énergie. (Guo *et al.*, 2020).

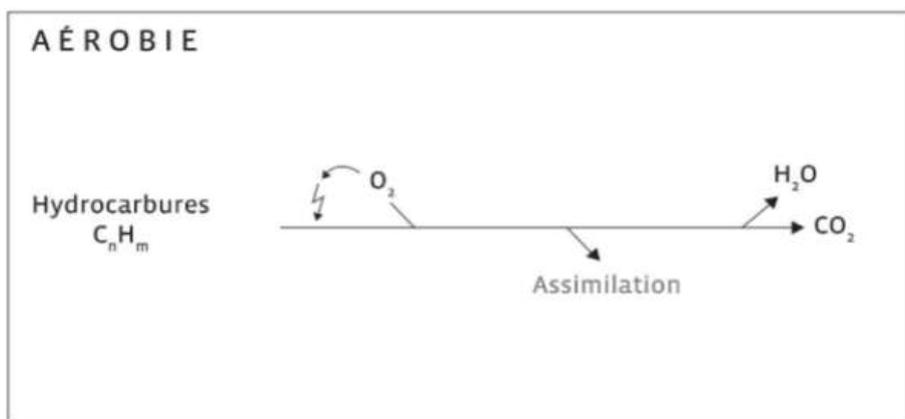


Figure 06: Dégradation d'un hydrocarbure en milieu aérobie.

L'hydrocarbure est oxydé, une partie est assimilée par la bactérie et une autre partie permet de produire de l'énergie (catabolisme). Même s'il n'est pas toujours le substrat utilisé, l'oxygène est nécessaire pour activer la réaction.

- **En milieu anaérobie**

Voies de dégradation anaérobies chez les bactéries En absence d'oxygène, les bactéries métabolisent les HAP par voie anaérobie, mais beaucoup plus lentement qu'en aérobie. Peu d'études décrivent les voies métaboliques impliquées dans cette dégradation. Les microorganismes utilisent majoritairement le nitrate et le sulfate comme accepteurs d'électrons et, dans une moindre mesure, le fer ferrique, le chlorate, le manganèse ou le CO₂ (Martin, 2011).

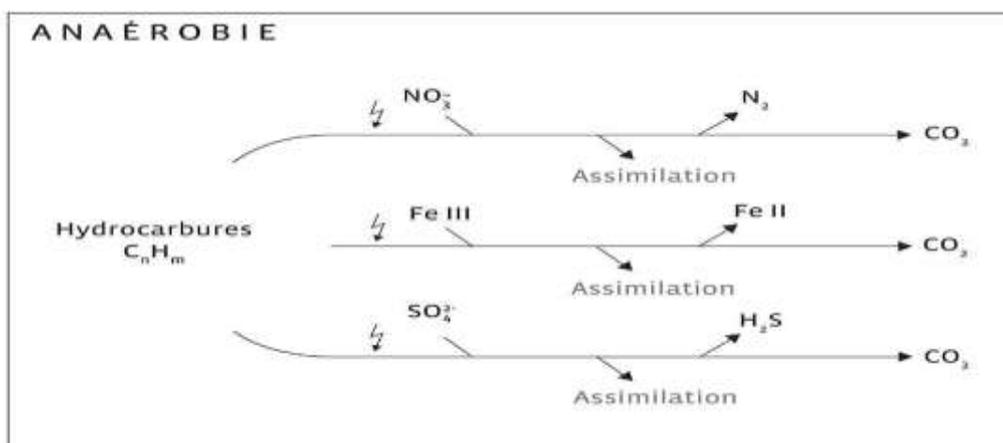


Figure 07 : Dégradation d'un hydrocarbure en milieu anaérobie

I.5.2.1.3. Conditions de la biodegradation

Comme tout les être vivants, les bactéries ont besoins de nutriments, les éléments essentiels à sa survie et à sa croissance dans le milieu. Voici les principaux facteurs affectant la biodégradation dans le sol :

Tableau02 : les principaux facteurs affectant la biodégradation dans le sol

les paramètres	Les conditions nécessaires pour l'activité microbienne	Les références
la température	<p>La température influe sur les taux de dégradation des hydrocarbures et sur la composition du pétrole, ce qui améliore la biodisponibilité des hydrocarbures ainsi que composition et activité métabolique des communautés microbiennes.</p> <p>-Dans les sols, 15 à 40 °C est la plage de température dans laquelle les taux de dégradation les plus élevés se produit généralement.</p> <p>une température appropriée peut améliorer les activités des enzymes microbiennes qui convertir les hydrocarbures et stabiliser la structure du communauté microbienne</p> <p>-L'augmentation de la température diminue également la viscosité du pétrole, augmente la solubilité des hydrocarbures, accélérer la diffusion des polluants hydrophobes et améliorer les taux de dégradation d'hydrocarbures.</p>	<p>-(Si-Zhong et al.,2009)</p> <p>-(Sims et al., 1990).</p> <p>-(Cui et al., 2020).</p>
Les nutriments	<p>L'absence ou le faible niveau d'éléments nutritifs clés dans le sol affecte directement les cellules microbiennes croissance et l'activité.</p> <p>-Un niveau optimal de nutriments est essentiel pour accroître l'activité microbienne des hydrocarbures.</p> <p>- Deux nutriments majeurs, l'azote et le phosphore sont considérés comme les plus importants, car ils sont requis pour l'incorporation du carbone dans la biomasse. mais des quantités excessives peuvent également avoir un effet négatif,.</p>	<p>-(Chaillan et al., 2006)</p> <p>-(Varjani et al.,2017).</p> <p>-(Si-Zhong et al.,2009)</p> <p>-(Khobragade et al., 2019).</p>
Disponibilité d'oxygène	<p>L'importance de l'oxygène découle du processus de respiration et de la participation des oxygénases dans la voie de dégradation subséquente des hydrocarbures.</p> <p>-la voie aérobie : Si l'accepteur d'électrons du métabolisme microbien est l'oxygène</p> <p>-la voie anaérobie : Si l'accepteur d'électrons du métabolisme microbien est minéral</p>	<p>(Koshlaf et Ball, 2017).</p>

	-la fermentation : Si l'accepteur est un composé organique (comme l'acide pyruvique)	
L' humidité	Un excès d'humidité peut affecter négativement l'activité microbienne en empêchant le mouvement de l'air et donc en diminuant la quantité d'oxygène disponible, source principale d'accepteurs d'électrons pour la majorité des micro-organismes du sol	-(Bidaud, 1998).
PH	le pH de l'environnement est un facteur clé pour la biodégradation des Hydrocarbures, puisqu'ils y pénètrent directement la survie et la reproduction de différents microorganismes, il a été signalé que de nombreux accepteurs d'électrons participent à l'oxydation des hydrocarbures, il varié entre pH = 5,5-8,5	-(Cui et al., 2020). - (Bidaud, 1998).
Salinité	La salinité exerce un effet osmotique sur les micro-organismes, qui ont aussi des besoins en sels comme NaCl, KCl et MgCl ₂ . Les fortes concentrations ont tendance à dénaturer les protéines, c'est-à-dire à casser la structure tertiaire des protéines qui est essentielle à l'activité enzymatique , La plupart des micro-organismes ont des besoins limités en sels et sont inhibés par des teneurs en NaCl supérieures à 2%, sauf les espèces halophiles (bactéries, champignons, algues) qui croissent en milieux salins et supportent bien des teneurs en NaCl de 15%, comme <i>Brevibacterium halotolerans</i>	(DU et al., 2016)

I.6. Toxicité des hydrocarbures

La toxicité peut être définie comme l'ensemble des effets négatifs sur les organismes causés par leur exposition à une substance ou un produit chimique. Ces effets négatifs peuvent être létaux ou sublétaux. Les caractéristiques chimiques et physiques d'une substance dans l'environnement déterminent sa disponibilité pour les organismes. Les niveaux et la durée d'exposition de ces organismes à cette substance sont des facteurs déterminants importants de la toxicité. Une exposition peut être aiguë (pour une courte période) ou chronique (pour une période prolongée). **(Dupui et Ucan-Marin, 2015)**. La persistance et la toxicité des hydrocarbures pétroliers varient grandement d'un composé à l'autre. En règle générale, la solubilité aqueuse des hydrocarbures décroît avec l'augmentation du nombre d'atomes de carbone, alors que la toxicité aquatique

augmente. Les composés de faible poids moléculaire sont plus volatils que ceux ayant un poids moléculaire élevé. Les hydrocarbures à poids moléculaire élevé sont peu solubles dans l'eau et ont davantage d'affinités pour le carbone organique des sédiments et les lipides des cellules biologiques. **(Boudreau *et al.*, 2019).**

I.6.1. L'effet toxique des hydrocarbures sur le sol

La pollution d'un sol par les hydrocarbures se traduit par une diminution de sa perméabilité, d'où une réduction des échanges gazeux avec l'atmosphère et par suite un ralentissement de la vitesse de biodégradabilité. Notons que tous les sols et sédiments contiennent des microorganismes capables de biodégrader les hydrocarbures, le seul facteur limitant à ce phénomène étant la quantité d'oxygène disponible. La persistance des produits pétroliers dans le sol constitue donc une source de pollution chronique des eaux souterraines. **(Belkhadir, 1979)**

I.6.2. Toxicité des hydrocarbures sur l'homme

Une fois présents dans les différentes composantes de l'environnement, les hydrocarbures peuvent passer dans la chaîne alimentaire. L'homme peut assimiler les hydrocarbures par trois voies (voie respiratoire, voie digestive, voie cutanée). **(Nguemte, 2019)**

L'effet des hydrocarbures peut s'étaler sur des périodes très longues. Ce danger est évidemment plus grave lorsqu'il s'agit des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Ces molécules ont pris une telle importance dans les problématiques environnementales c'est essentiellement du fait de leur toxicité pour l'homme et en particulier pour leurs propriétés cancérigènes (possible ou avérée pour la moitié des 16). Le benzo[a]pyrène est sans doute, à ce titre, le plus étudié parmi les 16 et le plus suivi car le plus toxique. Cette molécule a été classée cancérigène pour l'homme (groupe 1) par l'IARC. Le dibenzo [a, h] anthracène a été classé 2A (substance probablement cancérogène), les benzo[a]anthracène, benzo[b]fluoranthène, benzo[k]fluoranthène, Chrysène, indéno [1, 2,3-c, d] pyrène sont quant à eux classés 2B (substance possiblement cancérogène). Les neuf composés restants sont actuellement placés dans le groupe 3 : substance inclassable quant à sa cancérogénicité. Le tableau 03 rassemble les données toxicologiques de quelques uns de ces produits. **(Ouvard, 2016).**

Tableau 03 : Des données toxicologiques sur les 16 HAP d'après (Crone, 2001).

Nom	toxique	mutagène	tumorigène	cancérigène
Naphtalène	×	×	×	
Acénaphthylène		×		
phénanthrène	×	×	×	
anthracène		×	×	
fluoranthène	×	×	×	
pyrène	×	×	×	
chysène		×	×	×
benzo [b] fluoranthène		×	×	×
benzo [k] fluoranthène		×	×	
benzo [a]pyrène	×	×	×	×
dibenzo[a,h]anthracène	×		×	×
benzo[g,h,i]pérylène			×	
indéno[1,2,3-c,d]pyrène		×	×	×

I. Techniques de décontamination d'un sol pollué par les hydrocarbures

Comme nous l'avons vu précédemment, les hydrocarbures présentent le plus grave danger pour l'environnement et la santé humaine. Et dans le cadre de ce rapport des techniques doivent être prises en charge pour la décontamination des milieux pollués par ces composés.

II.1. Méthode physique

La technique physique la plus répandue actuellement consiste à injecter des fluides dans le sol afin de transférer et concentrer la pollution vers des points de récupération. le lavage et l'extraction sont les techniques les plus utilisés. Cette technique du «Lavage des sols» préalablement excavés peut être réalisée à pression normale ou haute pression. L'eau est ensuite dépolluée par passage dans une station d'épuration adaptée au polluant, l'air chargé en vapeurs toxiques est filtré sur charbon actif. et Pour l'extraction des métaux et des petites molécules organiques chargées, il existe des procédés électriques. Le principe repose sur la circulation d'un courant électrique dans le sol par l'intermédiaire d'électrodes poreuses. (Nouri et Haddioui, 2016).

II.2. Méthode chimique

Dans le cadre de cet essai, deux technologies chimiques seront présentées, soit l'oxydation chimique «qu'est une technique consiste en une dégradation des contaminants en contact avec des réactifs oxydants injectés dans la zone de sols contaminés (in-situ) ou mélangés dans un conteneur adapté (ex-situ) ». Et le lavage des sols in-situ qu'est basé sur un traitement des sols avec un solvant, Les contaminants adsorbés sur les sols s'accrochent aux solvants ou à l'eau. L'extraction chimique et la réduction chimique sont également des technologies chimiques existantes, mais leur niveau d'efficacité à ce jour ainsi que les frais y étant associés ne sont pas compétitifs pour le moment. (Dufresne, 2013).

II.3. Méthode thermique

Les traitements thermiques sont considérés comme une solution intégrale et définitive aux problèmes de contamination des sols. Plusieurs types de procédés existent : l'incinération, la désorption thermique ou la vitrification. Pour éliminer les Hydrocarbures par incinération, des températures très élevées sont nécessaires (500 - 1000 °C). Les sols pollués sont traités dans des incinérateurs rotatifs, lits fluidisés ou infrarouge. Cette technique de dépollution produit des émissions gazeuses indésirables (NOx) et des résidus solides (scories ou cendres). La vitrification convertit les sols en une masse inerte sous l'effet d'un courant électrique. Les fortes températures sont atteintes grâce à un système de plusieurs électrodes en graphite (températures de l'ordre de 1600 à 2000 °C). (Crone, 2001).

II.4. Méthodes biologiques

II.4.1. la bioremédiation

II.4.1.1. Historique de la bioremédiation

La bioremédiation n'est pas un nouveau concept : les microbiologistes l'ont étudié le processus depuis les années 1940. Cependant, la bioremédiation est devenue public aux États-Unis seulement à la fin des années 1980 comme une technologie de nettoyage des rives contaminées par pétrole déversé. (Hoff, 1993). La première utilisation commerciale des microbes naturels pour nettoyer efficacement une catastrophe environnementale toxique survenue à la fin des années 1960 à la suite d'un déversement accidentel de pétrole Cat Canyon (situé à Santa Barbara, Californie, États-Unis) après la rupture de l'arbre d'une pompe à huile. La nouvelle technologie de traitement de bioremédiation est issue de ces premières études sur la dégradation des hydrocarbures pétroliers. (Antizar-Ladislao, 2010) .

II.4.1.2. Définition de la bioremédiation

Le terme de bioremédiation est composé de "Bios " qui signifie la vie et se réfère aux organismes vivants et "remédier " qui signifie résoudre un problème (Babak *et al.*, 2013). La bioremédiation désigne à l'emploi de procédés biologiques pour éliminer les polluants industriels qui contaminent le cycle biogéochimique des substances naturelles, est une option avantageuse pour diminuer la pression exercée sur l'environnement. D'autres auteurs ont défini la bioremédiation comme suite :

Récemment,(Cui *et al.*, 2020) ont déclaré que la bioremédiation est une méthode effective qui peut être utilisée pour compléter la détoxification effective et la réduction du volume.

Selon (Glick, 2010) La bioremédiation microbienne est de plus en plus considérée comme une méthode raisonnable et efficace pour éliminer les contaminants environnementaux, en raison de la découverte de nombreux de microorganismes ou de leurs enzymes qui sont capables de dégrader les polluants organiques. Cette approche

est attrayante en raison de leur faible coût et des techniques simples, ainsi que d'être respectueux de l'environnement et facilement mis en œuvre sur le site.

(Singh et Ward, 2004) est le processus d'exploitation judicieuse des processus biologiques pour minimiser un impact environnemental indésirable est généralement l'enlèvement d'un contaminant de la biosphère.

Le principe de la bioremédiation

D'après (Abdelly, 2007). « la bioremédiation consiste à activer la capacité naturelle que possèdent de nombreux organismes, la plupart des temps microscopiques (bactéries, microalgues, champignons), à dégrader les polluants en composés inertes, comme l'eau et le gaz carbonique. Ces organismes peuvent être **indigènes** (déjà présents dans la zone polluée), ou **exogènes** (ajoutés au milieu), ou encore être prélevés sur le site contaminé, cultivées au laboratoire puis réintroduits dans le sol (bioaugmentation). La bioremédiation se déroule généralement en condition d'aérobic, cependant l'application de systèmes de bioremédiation en condition d'anérobic permet la dégradation d'un certain nombre de molécules récalcitrantes ». Les micro-organismes ont besoin de nutriments et de source carbonée pour fournir l'énergie nécessaire à leur croissance et leur survie. Il existe des bactéries responsables de la fixation de l'azote atmosphérique, de la solubilisation des phosphates, des bactéries sulfato-réductrices, des bactéries photo-synthétiques anoxygéniques et des bactéries méthanogènes. (Lang *et al.*, 2016).

II.4.1.3. Les principales technologies utilisées dans la bioremédiation

II.4.1.3.1. Techniques in-situ

Dans le contexte de la bioremédiation, le terme « in situ » signifie que la biorestauration a lieu au site contaminé, sans transfert de matières polluées, (da Silva *et al.*, 2020)est appliquée pour éliminer les polluants les sols contaminés et les eaux souterraines, (Babak *et al.*, 2013).L'efficacité de ce type de bioremédiation dépend des nutriments essentiels fournis à la croissance microbienne. La dégradation du déversement de pétrole a été appliquée avec succès par bioremédiation in situ. (Kumar *et al.*, 2018) cette dernière étant composée d'une série de techniques :

a) Bioventing

C'est le processus d'aspiration de l'oxygène à travers le milieu contaminé pour stimuler croissance et activité microbiennes. (Babak *et al.*, 2013).

Dans Bioventing, l'oxygène est fourni au moyen d'une injection d'air par la contamination résiduelle dans le sol. Le micro-organisme utilise l'oxygène et dégrade les composés organiques, comme les résidus de carburant adsorbés dans le sol. Il dégrade également les composés organiques volatils (COV) et les vapeurs qui sont libérés lentement dans le sol biologiquement actif. L'efficacité de cette méthode dépend du taux d'apport en oxygène et en nutriments pour la croissance microbienne. (Kumar *et al.*, 2018)

b) La bioaugmentation

Cette technologie consiste à l'introduction de gros volumes des cultures bactériennes à la surface du milieu contaminé dans l'objectif d'augmenter la biodégradation des contaminants organiques. Généralement les microorganismes sont sélectionnés sur la base de leur aptitude à dégrader les composés organiques présents dans le site à dépolluer. La culture peut comprendre une ou plusieurs espèces de microorganismes. Des éléments nutritifs sont généralement apportés dans la solution contenant les microorganismes. Cette suspension de microorganisme est apporté à la surface du sol dans les conditions naturelles ou injecte dans le site contaminé sous pression.

Cette technologie est largement utilisée pour décontaminer les sites contenant des hydrocarbures, Les microorganismes choisis sont des bactéries dotées d'une grande capacité de digestion de ces hydrocarbures (Abdelly, 2007).

c) La Biostimulation

Consistant en l'accélération des phénomènes biologiques de dégradation en apportant au sol des éléments nutritifs, généralement l'azote et le phosphore, ou d'autres substances augmentant le potentiel de biodégradation des sols (Ali Ahmed, 2011).

Biostimulation Réensemencement de populations prélevées sur le site dont la croissance a été stimulée en laboratoire ou en bioréacteurs installés sur site (Cunningham et Philp, 2000).

d) Combinaison Biostimulation et Bioaugmentation

Il est possible de combiner des actions de bioaugmentation avec des actions de biostimulation, ces deux technique de bioremédiation ont été appliquées sur le terrain.(Louati, 2013). Plusieurs études telles que (Bosco *et al.*, 2020) ont montré que la biostimulation par ajout de nutriments et la bioaugmentation par inoculation de bactéries renforcent le taux de dégradation de l'hydrocarbure pétrolier dans les sites contaminés.

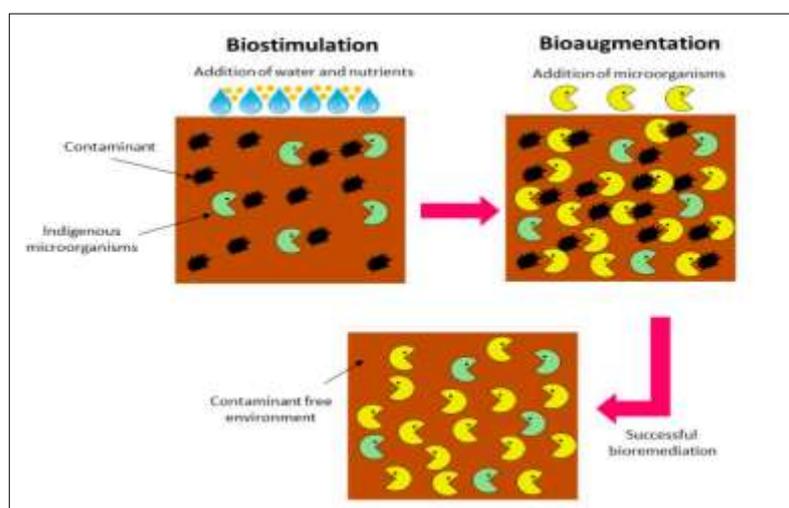


Figure 08 : Combinaison bioaugmentation biostimulation (da Silva *et al.*, 2020)

II.4.1.3.2. Techniques ex-situ

- Les techniques ex-situ permettent un meilleur contrôle des conditions environnementales, conduisant à une augmentation du taux de biodégradation par rapport aux techniques de traitement in-situ. En outre, grâce à la possibilité d'homogénéisation du sol pollué, l'opération est généralement plus uniforme et prend moins de temps (da Silva *et al.*, 2020).

a) Landfarming

C'est une technique simple de bioremédiation dans laquelle les sols contaminés sont excavés transportés sur le site de l'agriculture terrestre et répartis sur un lit préparé et labourés périodiquement jusqu'à ce que les polluants soient dégradés. (Singh et Haritash, 2019) L'objectif est stimuler des microorganismes biodégradables indigènes et faciliter leur dégradation aérobie des contaminants. En général, la pratique se limite au traitement 10 à 35 cm de sol. Étant donné que l'agriculture terrestre a le potentiel de réduire la surveillance et l'entretien coûts, ainsi que le passif de nettoyage, il a reçu beaucoup d'attention comme une disposition alternative (Babak *et al.*, 2013).

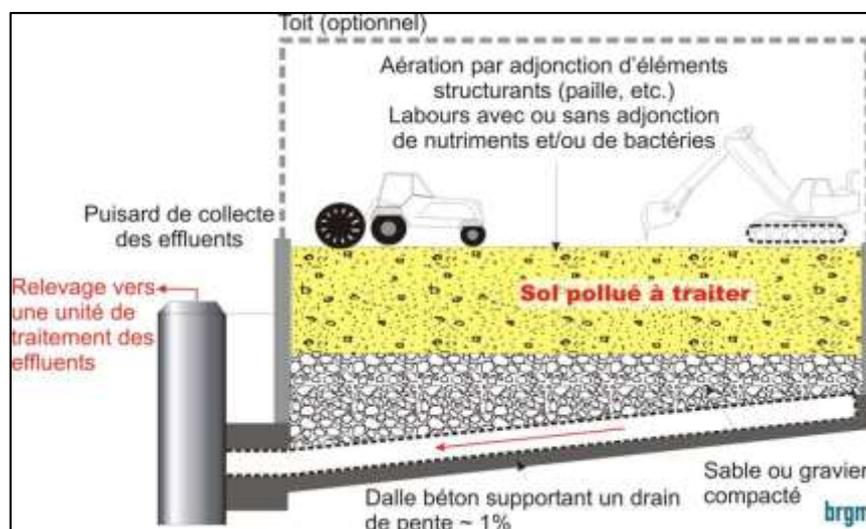


Figure 09 : Schéma de principe du landfarming. (Source : BRGM)

b) Compostage

Le compostage c'est un processus par lequel les microorganismes (mésophiles et thermophiles) dégradent les contaminants organiques une température élevée, c'est-à-dire entre 55 et 66°C, on appelle compostage. Au cours de ce processus, les microorganismes libèrent de la chaleur entraîne une augmentation de la température une plus grande solubilité des contaminants et une plus grande activité dans le compost. (Singh et Haritash, 2019).

c) Biopile ou biotertre

C'est l'excavation des terres avant ajout de micro-organismes adaptés au polluant, correspondant à de la bioaugmentation (**Mohamed et Abdelmajid, 2016**).

Selon (**Ali Ahmed, 2011**) C'est une technique utilisée lorsque le sol pollué contient une fraction de contaminants volatils non négligeable. Elle nécessite une mise en tas du sol qui sera recouvert d'une membrane imperméable. Le matériau à traiter est étalé sur une surface imperméable légèrement en pente. A la base du tas, une tuyauterie est installée permettant l'aération du matériau et au sommet, un dispositif d'aspersion servira à l'humidifier. Des rigoles permettent de récupérer l'eau sortant du tas et à laquelle on ajoute les nutriments et les microorganismes nécessaires. Les gaz sont aspirés et traités avant d'être libérés dans l'atmosphère.

II.4.1.4. Organismes effectuant la bioremédiation

La bioremédiation use de ce potentiel métabolique par l'utilisation de nouvelles fonctions cataboliques issues soit de la sélection, soit de l'introduction de gènes codant pour ces fonctions. Les processus de biodégradation par les microorganismes se développent en général spontanément dans le sol, mais certains nécessitent une phase plus ou moins longue d'adaptation à la dégradation de ces différents polluant. (**DU et al., 2016**).

Le nombre des microorganismes et leur biomasse dans le sol dépassent souvent l'imagination (tableau 04). Ils Peuvent effectuer la transformation et la dégradation des hydrocarbures dans des conditions aérobies et anaérobies dans l'environnement. (**Gbeddy et al., 2020**).

Tableau 04 : l'abandance et la biomasse des organismes vivants du sol d'après (**Gelin et Stengel, 1998**).

Paramètres Organismes	Nombre (UFC / G sol)	Biomasse (KG / HA)
Les Bactéries	$10^6 - 10^{10}$	300 - 3000
Les Actinomycètes	$10^5 - 10^7$	50 - 500
Les champignons	$10^4 - 10^6$	500 - 5000
Les algues	$10^3 - 10^5$	50 - 200

a) Les Bactéries

Ce sont les organismes les plus nombreux du sol. Elles sont unicellulaires, parfois mobiles, leurs tailles varient de 0,2 à 10 μm . « Des échanges de matériel génétique se produisent par conjugaison (transfert de matériel génétique d'un donneur vers un receveur avec contact direct), par transduction (transfert direct d'ADN par un virus attaquant la bactérie), ou par transformation (transfert d'un fragment de matériel

chromosomique d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice, sans contact direct). » (Bidaud, 1998). Il existe plusieurs genres bactériens différents mais les plus représentés dans le sol sont :

- **les Arthrobacter**: Gram variables à croissance lente, qui peuvent représenter 5 à 60% des colonies.
- **les Pseudomonas** : Gram- mobiles, représentant 3 à 20% des UFC (unités formant colonie). ils utilisent une grande variété de substrats organiques: sucres, acides aminés, acides humiques, huiles et de nombreux pesticides.
- **le genre Bacillus** : bâtonnets sporulant Gram+ ou Gram variables, souvent mobiles, qui est également bien représenté dans les sols: de 7 à 67%.
- **les Clostridium** : bactéries anaérobies utilisées pour la production d'alcool et de solvants.

b) Les Actinomycètes

Ce sont des bactéries hétérotrophes qui forment une structure végétative de type mycélien, plus fine que celle des champignons (1,0 à 1,5 μm). sont des bactéries aérobies à Gram positif qui forment des filaments ramifiés ou des hyphes et les pores sexuels (Alam et Jha, 2020). Ils sont particulièrement aptes à dégrader des substances organiques difficilement décomposables et produisent des vitamines et des antibiotiques (Zhao et al., 2019). Dans le sol, les genres les plus fréquents les *Nocardia* les *Streptomyces* qui représentent 90% de leurs biomasses. (Aouar, 2006).

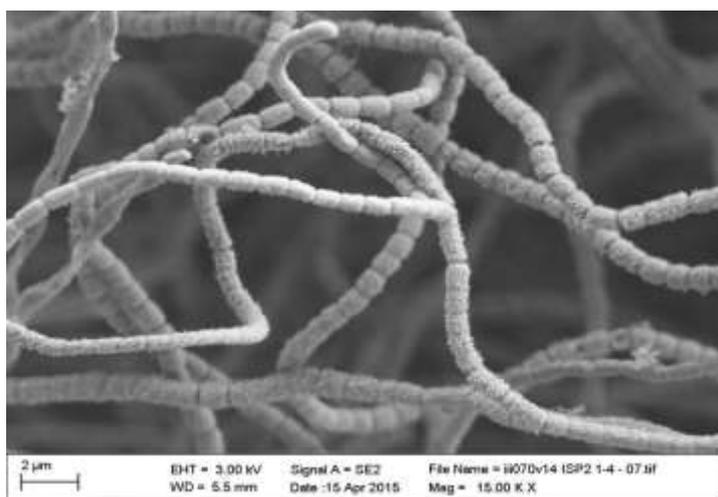


Figure 10: Chaînes de spores de bactéries *Streptomyces*
(source: Kim Findlay et Siobhan Dorai-Raj, Centre John Innes année)

c) Les champignons

Les champignons possèdent la plus grande diversité parmi les microorganismes du sol, ils peuvent se développer en acide, neutre, ou les sols alcalins, leur donnant un avantage sur les populations de bactéries et, d'actinomycètes qui ne poussent pas dans les sols acides. (Prasad et Varma, 2010).

D'après (sasson, 1967) Les champignons semblent plus résistants que les bactéries dans les conditions de très faible humidité et sont relativement plus abondants. De nombreuses études en sols ont démontré l'utilité et l'efficacité des champignons pour la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures Les principaux responsables de la dégradation des résidus organique du sol.



Figure 11: les champignons du sol (Jean-Michel, 2007)

D) Les algues

Les algues sont des organismes autotrophes (Prasad et Varma, 2010), photosynthétiques qui capturent l'énergie solaire pour transformer des substances inorganiques en matière organique, ont un grand potentiel de fixation du CO₂ de l'atmosphère et de produire O₂.

Ces microorganismes sont visibles à l'œil nu sous forme d'écume verte à la surface des sols, alors que certaines algues sont microscopiques. , Elles peuvent être unicellulaires (Chlamydomonas) ou filamenteux (Spirogyra, Ulothrix). (Jalilian *et al.*, 2020). Elles sont utilisées pour surveiller les substances toxiques pour l'environnement comme les pesticides, les métaux lourds et les produits pharmaceutiques et à l'étape finale du traitement des eaux usées. (Prasad et Varma, 2010).

II.4.2. La Phytoremédiation

II.4.2.1. L'historique de la Phytoremédiation

Au 16^{ème} siècle Andrea cesalpino, un botaniste de florence, découvre une plante poussant sur des roches naturellement riches en métaux .de 1814 a 1948 de nombreuses études sont faites par des scientifiques sur cette plante nommée *Alysum bertolonii* et on découvre alors qu'elle accumule dans son organisme une forte teneur en métaux du sol ou elle vit ,une teneur plus importante que celle dans le sol.par la suite ,d'autre plante ayant les mêmes propriétés sont découvertes.et c'est en 1970 qu'apparaît l'idée

d'utiliser ces plantes aux propriétés particulières (**Dabouineau et al., 2005**), mais cette technique ne s'est réellement développée que depuis une dizaine d'années et les véritables enjeux commerciaux ne sont apparus qu'au début des années 2000. (**Origo et al., 2012**).

II.4.2.2. Principe de phytoremédiation

Est une technologie émergente qui utilise les plantes et les microorganismes de la rhizosphère pour éliminer, transformer ou assimiler des produits chimiques toxiques situés dans les sols, les sédiments, les eaux souterraines, les eaux de surface et même l'atmosphère. (**Susarla et al., 2002**). Ces plantes possèdent de nombreux gènes endogènes et des propriétés biochimiques et physiologiques qui les rendent idéales pour l'assainissement des sols et des eaux pollués. (**Meagher, 2000**).

Toutefois, l'application et l'efficacité de cette technique dépendent fortement des caractéristiques du milieu et des espèces végétales utilisées. En effet, tous les procédés ne peuvent être utilisés partout ; les espèces doivent être compatibles avec le milieu à dépolluer. De bonnes conditions climatiques et édaphiques doivent être réunies pour que le traitement soit le plus efficace possible. (**Origo et al., 2012**). Selon (**Vavasseur et al., 2009**), Un grand effort de recherche a été fourni ces dernières années dans ce domaine qui a permis l'émergence de plusieurs stratégies pour développer des plantes adaptées à la Phytoremédiation.

- en augmentant la biodisponibilité des polluants : certains ligands (acides organiques), apportés comme amendement ou naturellement sécrétés par les racines des plantes, permettent d'améliorer la solubilité du polluant et donc son assimilation.
- en favorisant les processus rhizosphériques, qui se caractérisent par l'action combinée de la plante et de la faune microbienne présente autour des racines pour moduler la biodisponibilité, la prise en charge ou la dégradation du polluant.
- en optimisant les mécanismes d'absorption des polluants au niveau racinaire. Des protéines de transport intervenant dans la prise en charge de certains polluants inorganiques ont été identifiées.
- en augmentant le transport du polluant vers les parties aériennes pour son stockage ou sa volatilisation. Toutefois, les molécules responsables de ces transports sont actuellement peu connues.
- en favorisant la séquestration du polluant dans les racines (phytostabilisation) ou dans les parties aériennes (phytoextraction) par l'augmentation du nombre de molécules chélatrices via l'induction des enzymes qui les produisent.

II.4.2.3. Les modes d'action de la phytoremédiation

La Phytoremédiation regroupe quatre modes d'action différents (figure 12) chaque mode sera décrit en détails dans le tableau 04 suivant :

Tableau 05 : Les modes d'action de la phytoremédiation

Mode d'action	Description
Phytoextraction ou phytoaccumulation	défini l'absorption des polluants à partir de matrices contaminées par les plantes, La phytoaccumulation est définie par une concentration très importante de contaminants non dégradés rapidement ou très lentement dans la plante. On parle alors de plantes accumulatrices et/ou hyper accumulatrices capables de tolérer et d'accumuler ces polluants. (San Miguel, 2011)
Rhizofiltration	C'est un procédé similaire à la phytoextraction dans lequel les composés métalliques sont accumulés au niveau des racines. La rhizofiltration s'utilise plus facilement sur des cultures hors-sol ou l'élément à dépolluer est de l'eau contaminée. Dès que les racines sont saturées en métaux, on récolte les plantes puis on les traite selon le même principe qu'en phytoextraction. (repellini, 2000)
Phytostabilisation	consiste en l'utilisation des capacités de la plante à adsorber les contaminants et à stabiliser le sol via le système racinaire. Les plantes vont immobiliser les contaminants dans la zone racinaire par l'exsudation de composés chimiques, par l'inhibition des protéines de transport dans les membranes racinaires et par le stockage des contaminants dans les vacuoles des cellules racinaires. (Bert et Deram, 1999)

<p>Phytodégradation</p>	<p>correspond à la dégradation des polluants organiques dans la plante elle-même ou grâce aux microbes associés aux plantes dans leur rhizosphère ou dans leurs racines (mycorhizes, endophytes bactériens). Les plantes peuvent dégrader elles-mêmes des composés organiques grâce à leurs enzymes. Elles les catabolisent en composés inorganiques ou les dégradent en des formes plus stables qu'elles pourront stocker. (BES, 2008)</p>
<p>La phytovolatilisation</p>	<p>utilisation des plantes pour extraire les polluants du sol et les transformer en composés volatils (Abdely, 2007) comme les polluants organiques de type solvants chlorés très volatils, peuvent alors être volatilisés. Les plantes peuvent aussi transformer des éléments traces qui prennent alors des formes chimiques volatiles. (Morel, 2012)</p>

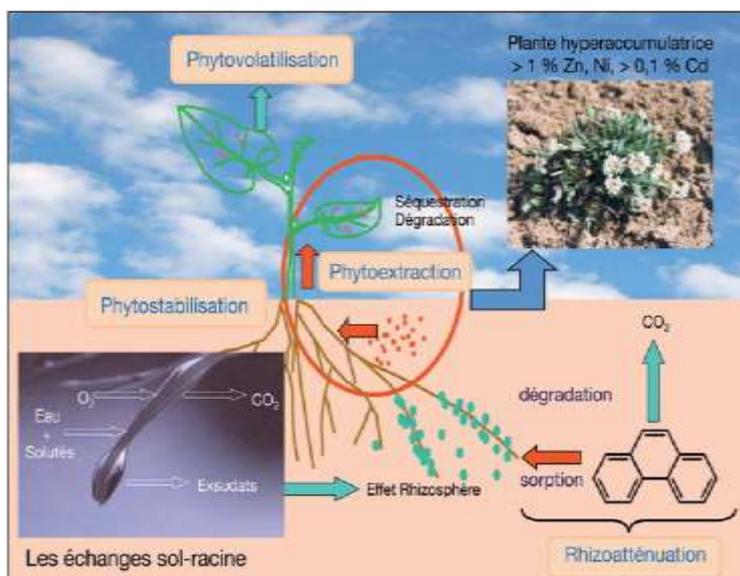


Figure 12: Mode d'action des plantes sur les polluants des sols. **(Morel, 2012)**

II.4.2.4. Avantage et limites de la Phytoremédiation

- **Avantage**

Par comparaison avec les traitements physico-chimiques, la Phytoremédiation montre un faible coût (se situe en moyenne entre 2 et 100 dollars par m³), Ce faible coût permet de traiter de grandes surfaces (elle génère des résidus riches en métaux

recyclables et elle est applicable à un grand nombre des métaux toxiques et de radionucléides.

- Elle provoque une perturbation minimale de l'environnement et permet même de réinitier le cycle de dégradation de la matière organique là où la végétation avait disparu. La décontamination par les plantes présente aussi l'avantage de réduire l'érosion et le lessivage des sites, ce qui maintient le polluant à proximité de la plante.

- La Phytoremédiation peut s'appliquer à une large gamme de métaux toxiques. En outre, pour un type de contaminant donné, comme les métaux, la sélectivité du végétal n'est pas stricte. Ainsi, certains *Thlaspi* venant de milieux calaminaires (riche en Zn, Pb, Cd) peuvent accumuler plus de 3% de Zn, 0,8% de Pb et 0,1% de Cd dans la matière sèche (**Ghnaya et al, 2006**).

▪ **Limite**

La Phytoremédiation est également souvent plus lente que les processus physico-chimiques, et peut devoir être considérée comme une mesure corrective à long terme processus. (**Cunningham et al .2000**) .Les principaux inconvénients sont le temps nécessaire pour cultiver les plantes et le potentiel de Pertes dues au feu, au gel et à d'autres causes naturelles ou anthropiques Il faudra peut-être des années, voire des décennies, pour réduire de moitié les niveaux de contaminants. (**Saier et Trevors, 2010**).

En effet, la dépollution par les plantes est conditionnée avant tout par les cycles de croissance végétale. Or, sous nos climats les plantes ont généralement un seul cycle végétal par an et les plantes hyper accumulatrices ont à la fois une croissance lente et une faible biomasse , Une autre limite de la phytoextraction réside dans le fait que l'accumulation d'un métal par la plante peut être inhibée lorsque le sol contient une pollution polymétallique. (**Kirpichtchikova, 2010**)

Une « ordonnance » de Phytoremédiation spécifique ne peut pas être appliquée à chaque site présentant un certain contaminant chimique parce que différentes conditions spécifiques du site pourraient ne pas convenir à la plante ciblée, Elle est limitée aussi par la biodisponibilité des polluants. Seule une fraction peut être biodisponible, mais les normes réglementaires de dépollution nécessitent l'élimination de tous les polluants. Dans ce cas, la phytoremédiation pourrait ne pas être pertinente. (**Simmons et al, 2011**)

Résultats et Discussion

I. Bioremédiation et phytoremédiation

Toute substance introduite dans l'environnement en quantité anormale est considérée comme un contaminant. Un excès de contaminant peut aboutir à une contamination. Les effets délétères des contaminants sur la faune et la flore conduisent à la pollution des écosystèmes. Selon le degré et le risque de pollution des sols, des techniques particulières de dépollution doivent être mises en œuvre, parmi ces techniques la bioremédiation et la phytoremédiation. (Cunningham *et al.*, 1993). Notre étude, est basée sur l'évaluation de l'efficacité de technique de bioremédiation sur la dépollution des sols pollués par les HC, et de voir les réponses de quelques plantes et mettre en évidence leurs capacités à tolérer ces polluants.

I.1. Quelques travaux réalisés sur la bioremédiation

I.1.1. Dégradation du fluorène et du phénanthrène dans les sols contaminés par les HAP à l'aide de souches de *Pseudomonas* et de *Bacillus* isolées des sites de déversement d'hydrocarbures :

(Rabodonirina *et al.*, 2019), ont examiné la capacité des trois souches bactériennes suivantes : (*B. Simplex*, *B. Pumilus* et *P. Stutzeri*) sur la dégradation des quatre groupes des HAP. L'essai de bioremédiation a été étudié pendant 72 jours en laboratoire, dans des conditions stériles et contrôlées. Les composés ciblés étaient le fluorène, le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène. Une série de plus de 100 flacons avec du papier d'aluminium a été préparés comme des microcosmes.

Chaque portion (5 g de sol) préalablement stérilisée (120°C, 20 min) a été mise dans le flacon ambré et enrichi avec le mélange des HAP préalablement préparé dans l'acétone pour obtenir une concentration finale de 500 mg/kg.

2 ml de l'inoculum a proliféré dans chaque 5 g de sol afin d'assurer une population bactérienne totale de 10⁷–10⁸ Ufc /g de sol sec.

I.1.1.1 Préparation de l'inoculum

L'inoculum a été préparé à partir d'une culture pure de chaque souche bactérienne sélectionnée et testée, qui s'était avérée capable à se propager même si à niveau élevé de HAP (1500 mg/L). Ces populations bactériennes étaient semblables à celles que l'on trouve habituellement dans la couche superficielle des sols non pollués.

I.1.1.2 Les résultats d'élimination des HAP

Après 72 jours d'incubation, nous avons remarqué que les trois bactéries sélectionnées sont apte à dégrader efficacement les HAP de faible poids moléculaire. Les résultats concernant l'élimination des composés chimiques (fluorène, phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène) sont présentés dans le (tableau 06).

Tableau 06 : Résumé du pourcentage de dégradation des HAP

Les bactéries	pourcentage de dégradation des HAP (%)			
	Fl	Phen	Pyr	Flu
<i>B. Simplex</i>	86.89	95.13	Nd	Nd
<i>P. stutzeri</i>	64.97	86.32	Nd	Nd
<i>B. Pumilus</i>	76.04	87.98	Nd	Nd

Nd : non déterminer

D'après ces résultats le (Fl) et le (phen) semblent être les composés les plus facilement biodégradables par les bactéries par rapport aux pyr et flu qui n'ont été pas dégradés (Tableau 06). Le taux le plus élevé de la dégradation de Fl est enregistré par *B.Simplex* avec un pourcentage important de 86,89% et de suivi par une dégradation de 64,97 % par *P.stutzeri* et 76.04 % par la bactérie *B.pumilus* .concernant la dégradation de phen la bactéries de *B simplex* elle a provoqué une dégradation supérieure à celles des autres bactéries avec 95.13 % , suivi par *P.stutzeri* et *B.pumilus* ; avec une dégradation de 86.32 % , 87.9% respectivement .donc , la dégradation du fluorène est relativement moins importante que celle du phénanthrène.de plus, aucun dégradation n'a été observée pour le fluoranthène et le pyrène .Cela indique que les trois bactéries sélectionnée ne pouvaient décomposer que les HAP à 3 cycles (le fluorène et le phénanthrène) .

D'après (Técher, 2011) la quantité et le type de HAP présents (nombre de cycles) influent sur la structure initiale des communautés bactériennes présentes dans les sols. Selon (Leglize, 2004) « Il existe différents mécanismes de décomposition d'une molécule organique. La minéralisation constitue une dégradation complète conduit à la production de CO₂. Ce processus fournit de l'énergie au microorganisme ces microorganismes sont capables de minéraliser les HAP et ils peuvent l'utiliser comme une source de carbone et d'énergie. Dans le cas ou les HAP composés de plusieurs noyaux aromatiques, la minéralisation est limitée ».

(Soltani, 2004) a signalé que les hydrocarbures de faible poids moléculaire soient très solubles dans l'eau et par conséquent très toxiques pour les microorganismes. Ils peuvent interagir avec la membrane cellulaire des microorganismes. Ces interactions conduisent à des changements structuraux et fonctionnels de la membrane, ce qui par conséquent, peut diminuer la croissance et l'activité cellulaire, qui conduit à une diminution de taux de dégradation.

I.1.2 La dégradation de phénanthrène par la technique de bioaugmentation

Divers études ont été effectuées pour évaluer le potentiel de bioaugmentation des sols pollués par les HAP, avec des cultures bactériennes mixtes dégradant les HAP. Récemment (Fazilah et al., 2020), ont étudié l'activité de dégradation de phénanthrène,

par l'inoculation des consotiums bactériens (bioaugmentation) dans un sol traité avec le phénanthrène .

I.1.2.1. Isolement et caractérisation des bactéries du sol

Trois souches bactériennes, (*Acinetobactérie sp.* P3d, *Bacillus sp.* P4a et *Pseudomonas sp.* P6) ont été isolées à partir des sols pollués par le phénanthrène. Ces souches ont été conservées dans la collection de culture de laboratoire.

L'expériences a été réalisée dans sept systèmes différents, Chaque système contenant 1 kg de sol, les échantillons sont placés dans des plateaux en plastique (30 x 30 x 15 cm). Les plateaux étaient recouverts d'une feuille d'aluminium stérile. Les bactéries ont été placées en trois monocultures et en quatre consortiums de cultures mixtes, et ils ont été calculés et tracés pendant 30 jours de culture .

Tableau 07 : Les Sept systèmes bactériens utilisés dans le cadre d'une étude sur la biodégradation du phénanthrène

systemes	inoculum
<u>Monoculture :</u>	<i>Acinetobactérie sp.</i> P3d <i>Bacillus sp.</i> P4a <i>Pseudomonas sp.</i> P6
<u>cultures mixtes :</u>	
consortiums A	<i>Acinetobactérie sp.</i> P3d + <i>Bacillus sp.</i> P4a + <i>Pseudomonas sp.</i> P6
consortiums B	<i>Acinetobactérie sp.</i> P3d + <i>Bacillus sp.</i> P4a
consortiums C	<i>Acinetobactérie sp.</i> P3d + <i>Pseudomonas sp.</i> P6
consortiums D	<i>Bacillus sp.</i> P4a + <i>Pseudomonas sp.</i> P6

I.1.2.1. Les résultats de la dégradation de phénanthrène par la technique de bioaugmentation

Les résultats obtenus sont représentés sur l'histogramme suivant :

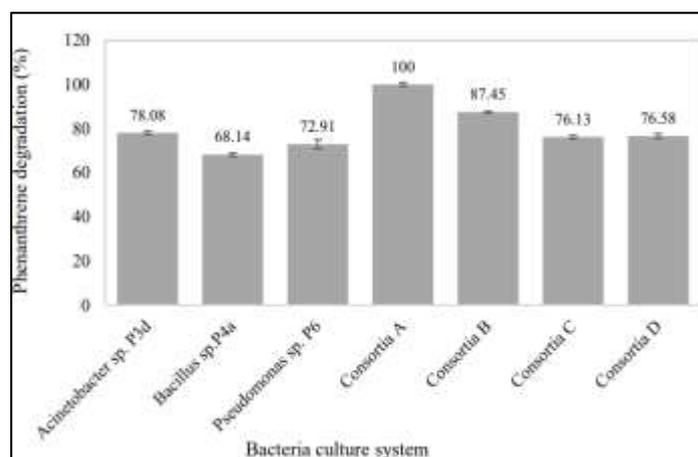


Figure 13: Le pourcentage de dégradation du phénanthrène des différents systèmes de culture bactérienne après 30 jours

Parmi les systèmes de monoculture, la dégradation la plus élevée est enregistrée chez l'*Acinetobactérie* sp. P3d avec 78,08 % après 30 jours de culture, suivi à celles de *Pseudomonas* sp. P6 (72,91 %) et *Bacillus* sp. P4a (68,14 %).

Concernant le cas des cultures mixtes, les souches ont affiché une plus forte dégradation du phénanthrène, au niveau de consortium A avec 100 %, suivie du consortium B avec 87,45 %, et des dégradations également à (76,58 % et 76,13 %) correspondants à les consortiums C et D, respectivement.

On a remarqué que le pourcentage moyen de dégradation des trois systèmes de monoculture était de 73,04 %, tandis que le pourcentage moyen de dégradation pour quatre systèmes de culture mixtes était de 85,04 %. En d'autres termes, le pourcentage de dégradation du phénanthrène dans le système de monoculture était inférieur à la dégradation au niveau des cultures mixtes après 30 jours de culture.

Donc la combinaison de trois souches bactériennes différentes (bioaugmentation) pourrait être très efficace pour l'amélioration de la bioremédiation des HAP par rapport aux cultures bactériennes pures uniques. Donc la culture pure d'*Acinetobactérie* sp. P3d et cultures mixtes des consortiums A (*Acinetobactérie* sp. P3D, *Bacillus* sp. P4a et *Pseudomonas* sp. P6) ont été sélectionnés comme des cultures bactériennes potentielles à la bioremédiation des sols contaminés par le phénanthrène.

(Nasseri *et al.*, 2010) ont confirmé l'effet avantageux de la bioaugmentation dans la bioremédiation des sols contaminés par les HAP. Cette étude consiste à utiliser les bactéries de *Pseudomonas*.spp, et *Pseudomonas aeruginosa* et consortium (A) de ces deux bactéries ensemble. Les trois cultures des bactéries *Pseudomonas*.spp, et *Pseudomonas aeruginosa* et consortium (A) ont attribué des dégradations de (87,8 %, 85,5 % et 92,8 %) respectivement, ce qui confirme l'effet positif de la bioaugmentation. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Hamdi *et al.*, 2007) qui ont examiné l'effet de bioremédiation de sol enrichi par le pyrène et le benzo[a]pyrène par l'ajoute des microorganismes (bioaugmentation) dans des microcosmes incubés en aérobiose pendant 120 jours, avec des sols contaminés par des HAP et contenant des dégradants indigènes actifs. Ils ont obtenu des résultats positifs concernant la bioaugmentation par les microorganismes exogènes.

I.1.3. L'efficacité de bioremédiation par la combinaison de bioaugmentation et de biostimulation

I.1.3.1. Dégradation des hydrocarbures pétroliers totaux

Le sol contaminé par le pétrole est séché à l'air, et tamisé à 2 mm avant l'utilisation de trois traitements différents (témoin CK, Bioaugmentation, Biostimulation). Une addition de l'eau stérile au niveau de sol pour maintenir une teneur en eau égale à 20 %.

- Le traitement de la bioaugmentation (BA) est utilisé la souche KF453955 d'*Acinetobactérie* SZ-1, cette souche a été inoculée dans le sol par une densité de 108 UFC/1g du sol.

- Le traitement de biostimulation (BS) se fait avec l'ajoute de $(\text{NH}_4)_2$, (SO_4) et (KH_2PO_4) , pour obtenir un rapport C: N: P de 100: 10: 1.
- Le traitement (CK) contenant des dégradants indigènes.

Pour chaque traitement, trois microcosmes (trois répétitions) ont été préparés, contenant chacun 500 g de sol, 100 ml d'eau stérile (20%). Les microcosmes ont été incubés à température ambiante pendant 10 semaines. Un échantillon de sol contaminé par le pétrole a été prélevé chaque semaine dans chaque microcosme (trois microcosmes) pour déterminer l'analyse HPT, les résultats obtenus sont présentés dans le diagramme suivant:

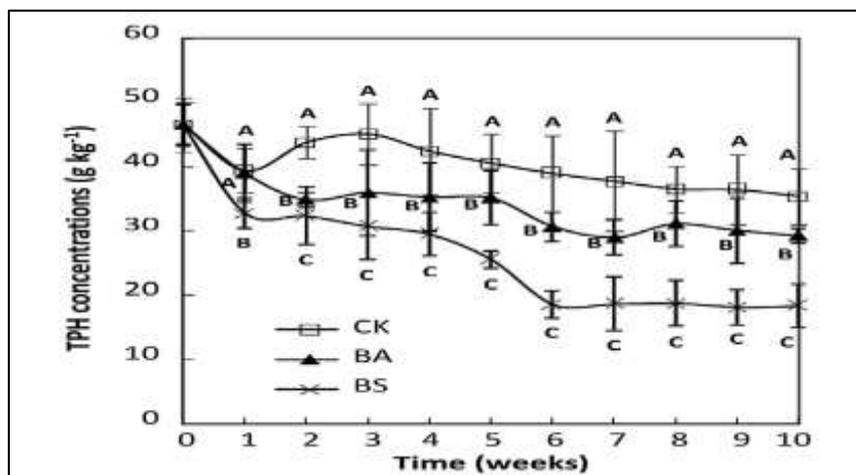


Figure 14 : Dégradation des HPT par biostimulation et bioaugmentation d'après (Wu *et al.*, 2016)

La (figure14) représente la dégradation des hydrocarbures pétroliers totaux par la biostimulation et la bioaugmentation. Après 10 semaines d'incubation ils ont déterminé la concentration des HPT dans trois courbe CK, BA, BS, respectivement.

La courbe (1) CK : les HPT dans le traitement CK ont été réduit à 35 400 mg/1kg de sol et représentés un épuisement de 16 % du contenu des HPT.

La courbe (2) BA : une quantité des HPT égale à 29,300 mg/ 1kg de sol dans les traitements de bioaugmentation (BA) ce qui représente une efficacité de dégradation des HPT de 34 % .

La courbe (3) BS : une diminution jusqu'à 18,400 mg/1 kg de sol ce qui représente une efficacité de dégradation des HPT de 60 % par rapport au totale .

Une dégradation très élevé a été observé entre la sixième et la septième semaine d'incubation lors de la bioremédiation.

La biostimulation par les nutriments (azote et phosphore). et la bioaugmentation (par la souche KF453955 d'*Acinetobactérie* SZ-1, ont amélioré la biodégradation de manière significative des HPT par rapport au traitement CK, mais le traitement de biostimulation a été le plus efficace des deux traitements.

Selon (Singh et Haritash, 2019) les facteurs biologiques tels que la disponibilité des nutriments, un environnement favorable, l'adaptation microbienne et leur activité catabolique sont des régulateurs importants de la biodégradation des HAP.

(Ramadass *et al.*, 2018) et (Ebadi *et al.*, 2017) aussi (Hesnawi et Adbeib, 2013) indiquant que la bioremédiation des sols contaminés par le pétrole était plus efficace grâce à ces deux techniques (la biostimulation et la bioaugmentation).

I.2. Quelques travaux réalisés sur la phytoremédiation

Le présent travail visait à voir les réponses physiologique et biochimique au stress causé par les hydrocarbures chez les deux plantes modèles, (*Arabidopsis thaliana*) et (*Oryza Sativa L.*), les semis d'*Arabidopsis thaliana* ont été traités avec la phénanthrène. Et les graines du riz (*Oryza sativa L.*) ont été plantés dans des sols contaminés par de phénanthrène et de Pyrène, en présence et en absence d'une bactérie dégradante les HAP.

(Liu *et al.*, 2009) ont examinés l'impacte de phénanthrène sur les paramètres physiologiques et biochimiques de la plante (*Arabidopsis thaliana*), dans ce contexte les semis d'*Arabidopsis thaliana* ont été traités avec de 5 doses différents du phénanthrène (0.25 , 0.50 , 0.75 , 1.00 , 1.25 mM).

I.2.1. L'effet de phénanthrène sur la plante (*Arabidopsis thaliana*)

I.2.1.1. Paramètre Physiologique

I.2.1.1.1. L'effet de phénanthrène sur la germination et la croissance des racines

Les graines soumis à un traitement au phénanthrène de (1,0 mM) pendant 11 jours Les résultats enregistrés indiquent que le taux de germination après le traitement par le phénanthrène a augmenté, mais avec un faible pourcentage par rapport au control (figure 17A). Le taux de germination a été observé dès le premier jour dans les deux cultivars. Dans le cas des plantes témoin, le taux de germination continué à augmenter jusqu'à ce qu'il se stabilise au bout du huitième jour avec un pourcentage de 100%, au contraire on a observé une réduction de 50 % lorsque les graines ont été stressé par 1.00 mM de phénanthrène.

Concernant la longueur des racines de plante d'*Arabidopsis thaliana*, la (figure 17B) montre un rabougrissement au niveau des racines des plantes traitées par (1,0 mM) de phénanthrène, où la croissance des racines ne commence pas jusqu'au 2 ème jour. Contrairement à ce que nous avons vu dans le cas des plantes témoin où la croissance commence dès le premier jour, avec une hauteur qui atteint les 3 cm .tandis que la cinétique de la courbe de croissance de sol traité traduit une mauvaise croissance des racines avec un maximum de 1.8 cm .

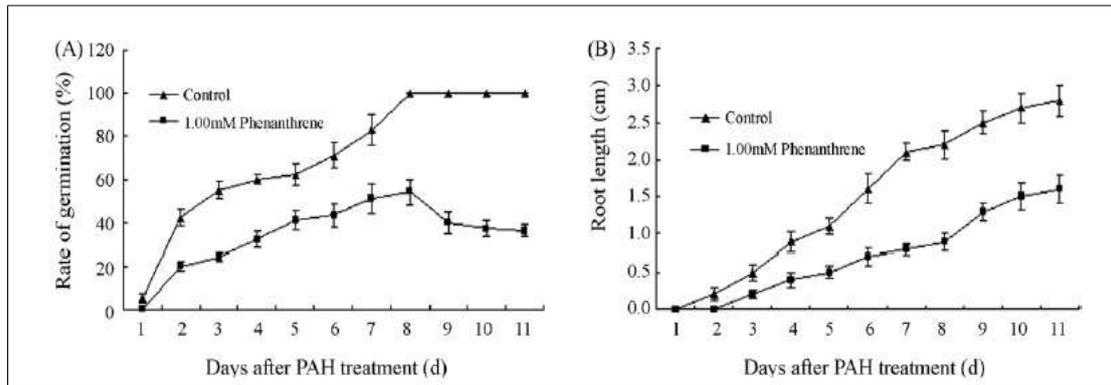


Figure 15 : L'effet de phénanthrène sur La germination et la longueur des racines de plante *Arabidopsis thaliana* .

➤ Test de germination

La (figure16) montre que le traitement par les doses (1.00, 2.00 mM) de phénanthrène induit une réduction de potentialité germinatif des graines d'*Arabidopsis thaliana* par rapport aux plantes témoin .La dose 1.00 mM de phénanthrène a affectée la levé des graines d'*Arabidopsis thaliana* mais avec un effet inferieur à celui de la dose 2.00 mM, qui a causé la pourriture et la mort de toutes les graines au bout de 19 ème jour.

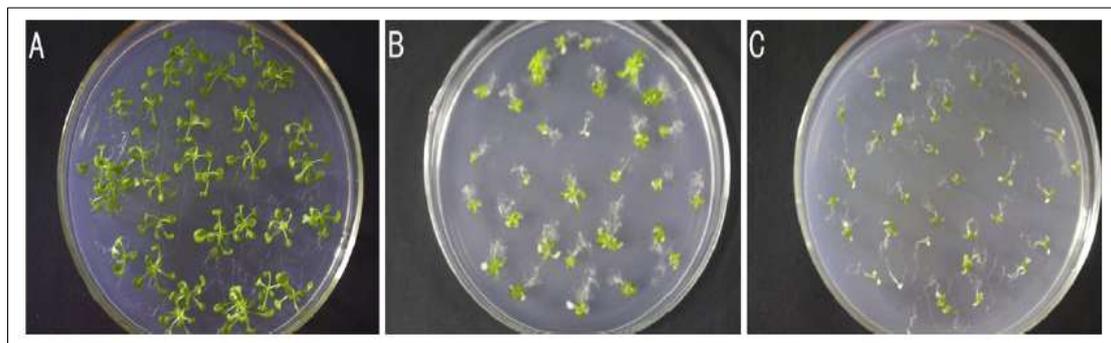


Figure16 : L'effet de différentes concentrations de phénanthrène sur la germination d'*Arabidopsis thaliana* .

1.2.1.1.2 L'effet de phénanthrène sur la teneur en chlorophylle a, b, et (a+b)

Les teneurs en chlorophylle a, b et totale sont nettement diminués dans les feuilles avec l'augmentation des doses par le phénanthrène par rapport aux plantes témoins (figure17) .la teneur de chlorophylle b est très faible comparativement a celle de chlorophylle a et totale.

La concentration de chlorophylle la plus élevée a été détectée dans les plantes témoins. On a observé une baisse de taux de chlorophylle a comparativement aux plantes témoins de (10,2%, 35,1%, 40,5%, 40,8%, 64,9%), aux doses de phénanthrène (0.25, 0.50 , 0.75 , 1.00 , 1.25 mM) respectivement. la teneur en chlorophylle b a subi une réduction

progressive suite à l'effet du stress par le phénanthrène comparativement aux témoins, les pertes de chlorophylle b enregistrées sont de l'ordre de (27,1 %, 30,7 %, 40,7 %, 46,3 % et 62,8 %), pour les doses de phénanthrène (0,25, 0,50, 0,75, 1,00 et 1,25 mM) successivement.

Sous l'effet du phénanthrène, la teneur en chlorophylle (a+b) a diminué dans les plantes traitées pour les différentes doses de phénanthrène. La réduction de taux de chlorophylle (a+b) est de (15 %, 33%, 40 %, 58.3 %, 65 %) pour les plantes essais aux concentrations successive : (0,25, 0,50, 0,75, 1,00 et 1,25 mM) de phénanthrène par rapport aux plantes témoin.

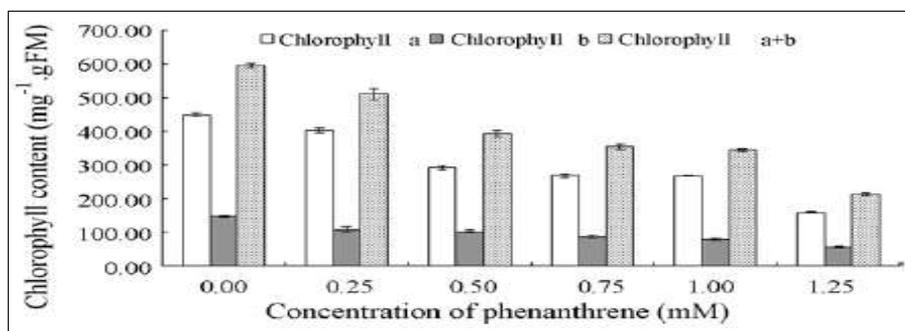


Figure17 : Les niveaux de chlorophylle a, b et (a+b) d'*Arabidopsis thaliana* en fonction des doses au phénanthrène.

1.2.1.2 Paramètre biochimique

1.2.1.2.1 Changements de l'activité enzymatique antioxydant dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* traitées par le phénanthrène

Les activités enzymatiques antioxydantes en réponse au phénanthrène sont illustrées à la (figure 18). Après 30 jours d'exposition au phénanthrène, l'activité du SOD dans les feuilles des plantes stressées était plus supérieure par rapport aux plantes témoin. Une augmentation d'activité de (45,2 %, 49,7%, 53,8%, 116,1%, 175,9%) a été détectée à des concentrations (0,25, 0,50, 0,75, 1,00 et 1,25 mM) de phénanthrène, respectivement (figure 18A).

Concernant l'activité CAT, Les valeurs indiquent une baisse d'activité par rapport au témoin (Figure 18B), avec une réduction de 11,5%, 23,4%, 0,4%, 11,2% et 26,7% correspondants aux doses (0,25, 0,50, 0,75, 1,00 et 1,25 mM) de phénanthrène, on a remarqué que l'activité CAT a été peu affectée pour les différentes concentrations en phénanthrène à l'exception dans concentrations 0,50 et 1,25 mM qui sont significativement différents à la plante témoin après 30 jours de stress avec le phénanthrène L'analyse de l'activité CAT dans les feuilles, a révéler qu'il y a une diminution progressif de cette dernière.

Dans l'*Atriplex thaliana* le pourcentage d'activité de POD a augmenté de 510,1 %, 493.2 %, 205.08 %, 154.2.0 % et 111.8 %, à des traitements au phénanthrène (0,25, 0,50, 0,75, 1,00 et 1,25 mM) respectivement, comparativement à la plante témoin. (Figure 18 C) .pour l'activité APX (Figure 18 D) elle a augmenté de 75,9%, 67,1%,

41,4%, 20,3% et 10,5% avec les concentration croissantes phénanthrène (0,25, 0,50, 0,75, 1,00 et 1,25 mM) successivement .

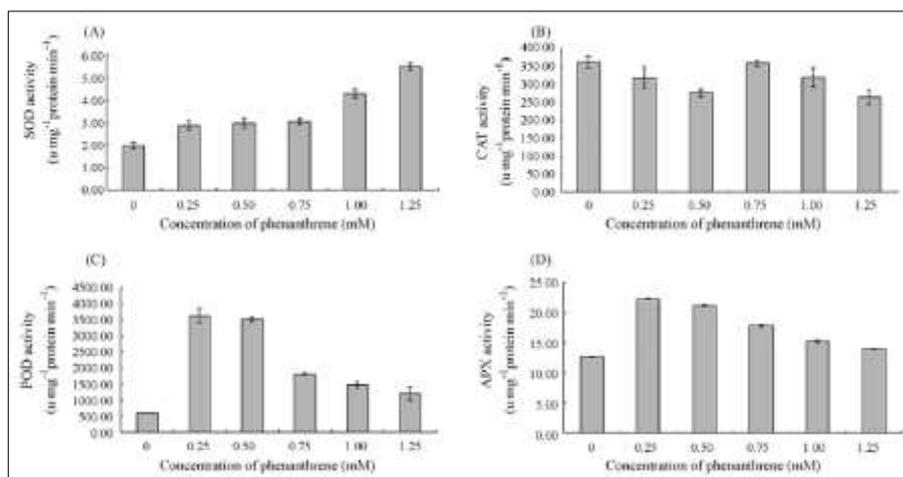


Figure 18 : Effet de divers niveaux de phénanthrène sur (A) la superoxyde dismutase (SOD); (B) la catalase (CAT); (C) la peroxydase (POD); (D) la peroxydase d'ascorbate (APX) des feuilles d'*Arabidopsis thaliana*

1.2.1.2.2. Changements dans le GSH sous contrainte phénanthrène dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana*

D'après la (figure 19), on a remarqué une augmentation de niveau de GSH non négligeable dans le tissu foliaire soumis au stress par le phénanthrène par rapport à la plante témoin. Il ressort de ces résultats que la teneur la plus basse de GSH est obtenu pour le témoin, L'application de phen aux doses (0.25, 0.50, 0.75 1.00, 1.25 mM) produit une augmentation de 32.55%, 33.06%, 33.44%, 34.8%, 51.16 % respectivement. L'analyse statistique montre que le contenu de GSH est significatif dans le tissu foliaire d'*Arabidopsis thaliana* avec tous les traitements de phénanthrène par rapport à la plante témoin. Mais il est important de souligner la différence significative de GSH entre le traitement 1.00 et 1.25 mM .

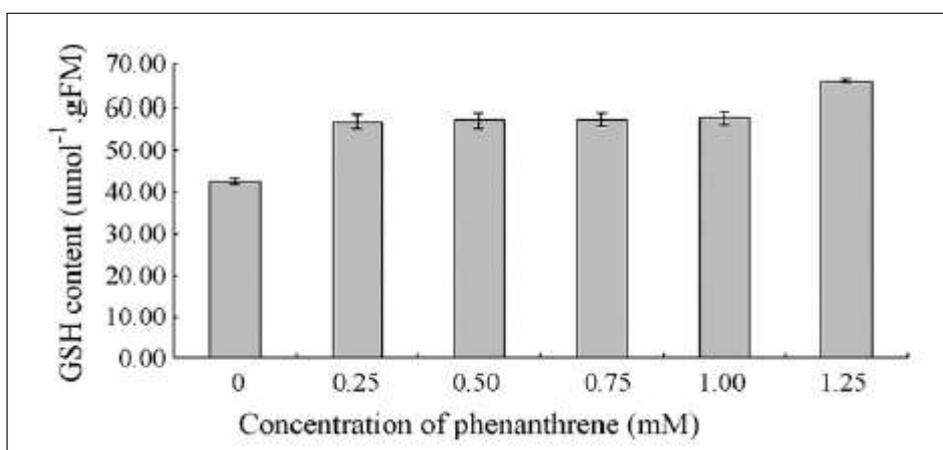


Figure 19 : L'effet de divers niveaux de phénanthrène sur le GSH dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* après 30 jours de traitement.

I.2.1.2.3. Effets de phénanthrène sur les concentrations de H₂O₂ au niveau des feuilles d'*Arabidopsis thaliana*

Les changements de contenu H₂O₂ en réponse aux différentes concentrations de phen sont illustrées à la (figure 20). Une hausse a été enregistrée après 30 jours d'exposition au phe, la teneur de H₂O₂ dans le tissu foliaire était plus de 5.8 % 7.4 % 7.6 % 10.2 % 10.7 % 18.1% que le témoin, Correspondant à (0,25, 0,50, 0,75, 1,00 et 1,25 mM) de phénanthrène. Les résultats ont révélés une différence significative pour tous les traitements par rapport au témoin.

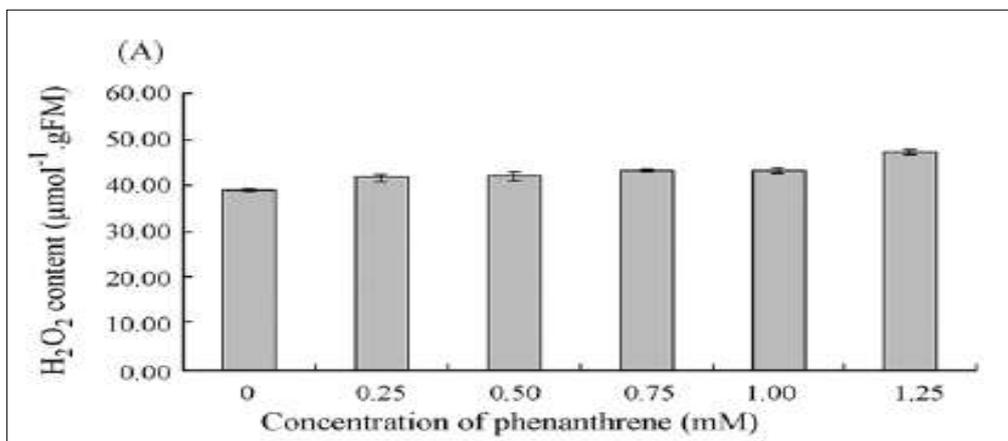


Figure 20 : L'effet de divers niveaux de phénanthrène sur la teneur en H₂O₂

✓ Détection histochimique du peroxyde d'hydrogène H₂O₂

Une étude histologique présente dans la (figure 21) montre l'effet d'accumulation de H₂O₂ sur le tissu foliaire. Après un traitement de 14 jours par le phénanthrène, Le peroxyde d'hydrogène a été détecté par une méthode colorimétrique utilisant la méthode DAB et examiné sous un microscope fluorescent inversé à 40 amplifications. L'augmentation des concentrations de phénanthrène entrainé une accumulation de H₂O₂ qui a causé la polymérisation de DAB et la formation de taches brunes foncées .cette méthode permet de relever les dommages causés par l'accumulation de cet élément dans les tissus stressé Où nous avons remarqué que les cellules, les stomates et les organites, sont apparus flous et diffus.

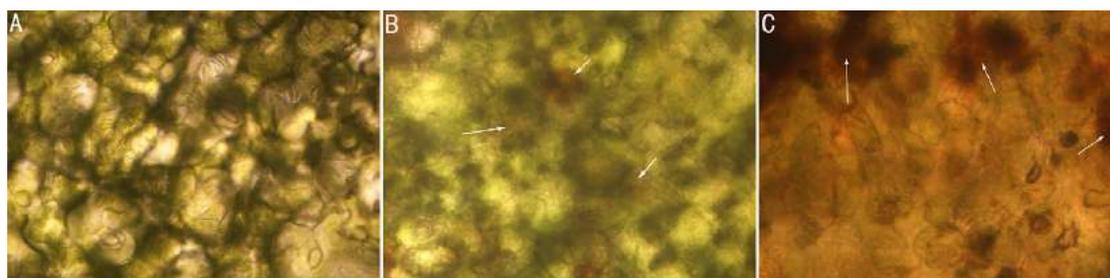


Figure 21 : Une coloration par DAB des tissus foliaires après un traitement à 14 jours au phénanthrène. (A) Feuille témoin; (B) traitement au phénanthrène de 1 mM; (C) traitement au phénanthrène de 2 mM.

I.2.1.2.4. Effet du phénanthrène sur la peroxydation lipidique de la membrane foliaire d'*Arabidopsis thaliana*:

Pour mieux comprendre l'effet oxydatif dommageable causé par le phénanthrène à la membrane, une estimation a été effectuée concernant l'accumulation de MDA après la peroxydation des lipides membranaires dans le tissu foliaire d'*Arabidopsis thaliana* (figure 22). La teneur en MDA augmente progressivement avec une exposition au phénanthrène pendant 30 jours. La teneur en MDA était de 15.38 %, 30.7 %, 38.4 %, 41.02 %, 42.4 plus élevé que le contrôle, pour les doses à (0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1.25mM). Les concentrations 0.50, 0.75, 1.00, 1.25mM ont un effet significatif sur la MDA de la surface foliaire par rapport à la plante témoin.

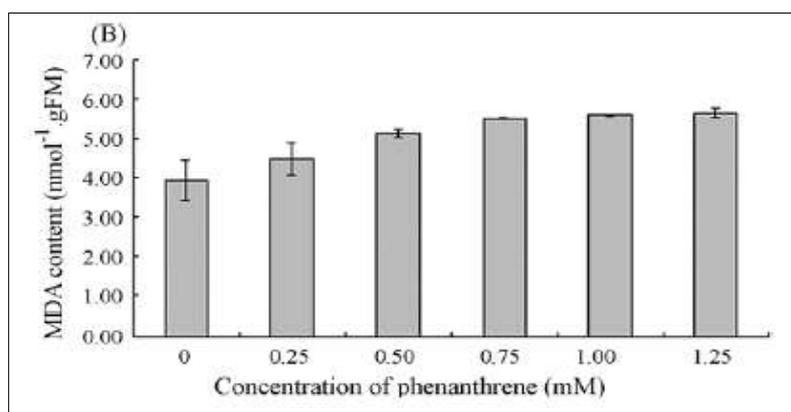


Figure 22 : la teneur de Malondialdéhyde (MDA) après 30 jours de traitement dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana*

I.2.2. Effet de (phénanthrène + pyrène) la plante de riz (*Oryza Sativa. L*)

D'après (Li *et al.*, 2008) cette étude a porté sur les effets physiologiques et biochimiques les réactions du riz (*Oryza sativa. L*) au stress hydrique après avoir été planté dans des sols contaminés avec Phe et Pyr, en présence ou en l'absence d'une bactérie dégradant les HAP (*Acinetobacteria .sp*).

I.2.2.1. Paramètre physiologique

I.2.2.1.1. l'effet de Pyr et Phen sur la biomasse et la teneur en eau de riz

Les résultats de la (figure 23a) montrent que la biomasse de la culture riz en présence des bactéries est plus importante que la biomasse du riz lorsque les bactéries étaient absentes. Les doses croissantes des HAP provoquent une diminution significative $p < 0.01$ (tableau 1) de la biomasse de riz en absence de bactéries, la biomasse passe de 15 g pour la plante témoin à 13 g dans le riz traité à 400 mg /kg⁻¹ des HAP. Au contraire l'inoculation des bactéries a augmenté la biomasse de riz de manière significative ($P < 0,001$) (tableau 8), avec une biomasse de 2%, 27%, 37% et 55% plus élevée pour les mêmes doses des HAP en absence des bactéries. la biomasse de riz

associé avec les bactéries passe de 16 g chez la plante témoin à (20, 20, 17 g) dans les plantes stressée à (100, 200, 400 mg /kg⁻¹) respectivement

La (figure 23b) montre que la teneur en eau a diminué légèrement avec l'augmentation des concentrations des HAP en deux traitement. (P 0,05) (Tableau 8).les valeurs obtenus montrent que dans le cas de riz le pourcentage varie entre 63% à la plante et 62% 61% et 54% pour les doses (100, 200, 400 mg /kg⁻¹), Le pourcentage du teneur en eau pour le traitement inoculé avec des bactéries varie entre 63% pour la plante témoin et de 62 % 61% 60 % pour les dose (100, 200, 400 mg/kg⁻¹) successivement , on a constaté que la diminution est plus importante lorsque les bactéries étaient absentes.

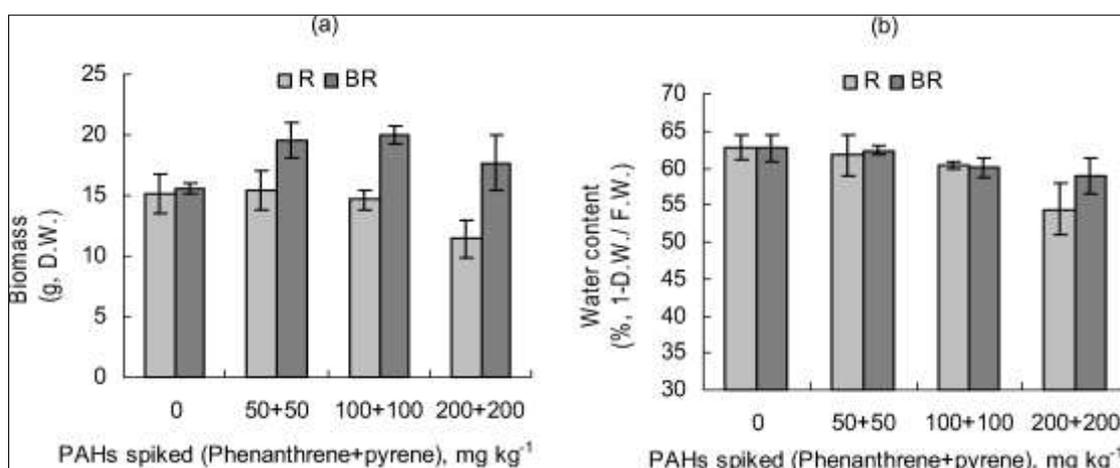


Figure 23 : Effet des HAP et des bactéries dégradant les HAP sur (a) la biomasse et (b) la teneur en eau du riz. R : culture du riz ; BR : culture de riz bactérienne.

Tableau 8 : Analyses de variance des effets des HAP dans le sol et des bactéries dégradant les HAP sur 10 paramètres dans le riz

Paramètres	Analyses de variances					
	HAP _s		Bactérie		HAP _s × Bactérie	
	F values	Sig.	F values	Sig.	F values	Sig.
Biomasse	6.25	0.005**	47.36	0.000***	4.96	0.013*
Teneur en eau	4.37	0.02*	0.85	0.37	0.76	0.53
Chlorophylle	8.17	0.002**	44.2	0.000***	5.55	0.008**
Rapport chlorophylle a/b	5.05	0.012*	0.002	0.963	0.482	0.7
Activité POD	2.72	0.079	0.035	0.854	2.51	0.096
Activité SOD	3.06	0.037*	0.947	0.345	0.805	0.509
Glucides solubles	1.69	0.209	2.82	0.113	0.459	0.715
Protéines solubles	7.26	0.003**	0.004	0.951	1.72	0.204

Les valeurs et les niveaux de signification pour les Les ANOVA bidirectionnelles des données ont été analysées à l'aide du GLM ; niveau significatif à *p < 0,05 (n = 4) ; **p < 0,01 ; ***p < 0.001.

I.2.2.1.2. effet de Pyr et Phen sur la Teneur en chlorophylle et rapport chlorophylle a/b de riz

les résultats obtenus dans la (figure 24), montrent que la dose (400 mg kg⁻¹) a entraînée, une perte de 40.5% dans le cas de riz. par contre la teneur en chlorophylle a augmente de manière significative (P < 0,001) (tableau 8), où les bactéries ont été présentes, les taux de chlorophylle de 35.29%, 88.1%, 2 % respectivement pour les concentrations (100, 200, 400 mg kg⁻¹) comparativement au témoin (figure 24a). Une augmentation a été enregistrée du rapport chlorophylle a/b pour les deux cultivars (figure 24b) le ratio de chlorophylle a/b dans le cas de riz augmente 22.2%, 33.3 % 16.6% pour les doses des HAP (100, 200, 400 mg kg⁻¹) successivement, et de 41.1%, 35.29%, 16.6% pour les même doses en présence des bactéries. L'augmentation du rapport chlorophylle a/b n'était pas statiquement significative pour tous les concentrations des HAP sauf pour les doses (100 et 200 mg kg⁻¹) était statistiquement significatif (P < 0,05) (tableau 8).

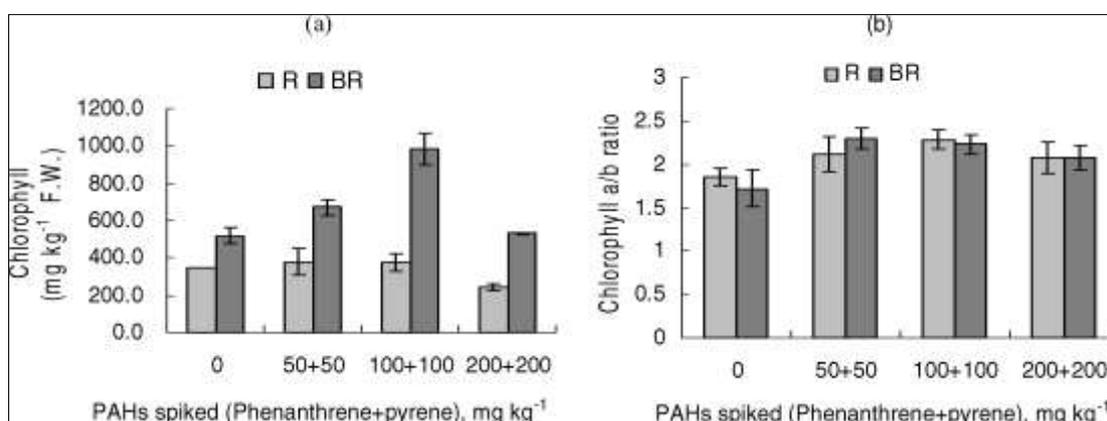


Figure 24 : Effet des HAP et des bactéries dégradant les HAP sur (a) la teneur en chlorophylle et (b) la rapport chlorophylle a/b dans le riz. R : culture du riz ; BR : culture de riz bactérienne.

I .2.2.2.Paramètre biochimique

I.2.2.2.1. L'effet de Pyr et Phen sur l'Activité des enzymes antioxydants (SOD , POD) de riz

L'addition des HAP a induit une élévation significative de l'activité SOD par rapport au témoin (Figure 25a) , chez les groupes de riz non inoculés par les bactéries une augmentation a été observée de 10 % , 50 % , 150 % , à (100, 200 et 400 mg kg⁻¹), respectivement . En ce que concerne l'activité SOD en présence des bactéries l'activité augmente aussi avec (55.5 % , 37.5 % , 112.5%) pour les concentrations des HAP (100, 200 et 400 mg kg⁻¹), successivement . Lorsque les bactéries étaient absentes, il y avait une corrélation positive de Pearson entre l'activité de la SOD dans les tissus du riz et le niveau de concentration des HAP (bilatéral, P < 0,05) (tableau 8).

Concernant l'activité POD dans la culture de riz une légère augmentation a été observée chez les plantes traitées par les HAP comparativement a la plante témoin (figure 25b

), des activités de POD de (5.4 %, 8.7%) pour des concentration de (100, 200 mg kg⁻¹) des HAP ont été observé , Cependant une réduction de l'activité POD de 7.6 % en présence de forte concentration des HAP à 400 mg kg⁻¹. Tandis que L'activité de POD dans les milieux de culture contenant l'inoculum bactérien a également légèrement augmenté à de 8.8 % (100 mg kg⁻¹) de HAP mais ont a observé une baisse d'activité a partir de la dose 200 mg kg⁻¹ des HAP.

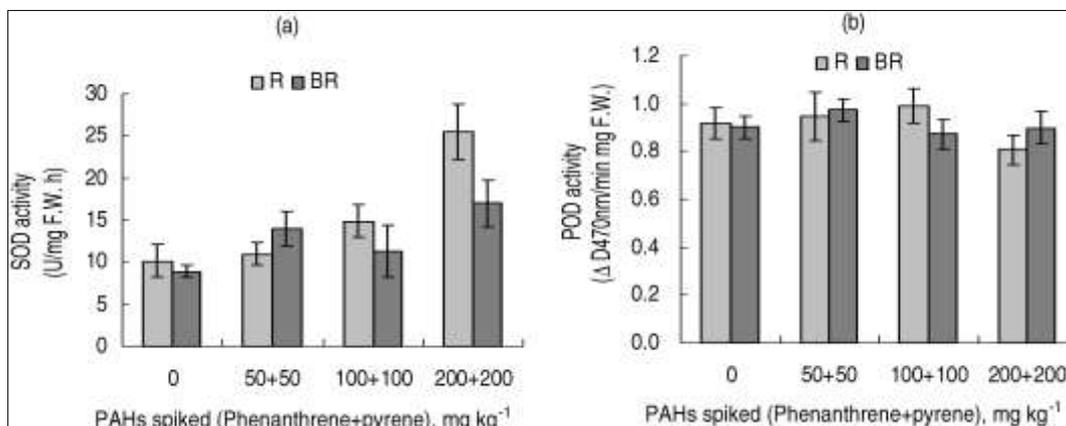


Figure 25 : Effet des HAP et des bactéries dégradant les HAP sur l'activité (a) de la SOD et (b) de la POD dans le riz. R : riz culture ; BR : culture de riz bactérienne.

1.2.2.2.2. L'effet des Pyr et Phen sur les glucides et les protéines solubles de riz

La teneur en glucides solubles augmente en présence des HAP dans tous les cultivars mais de manière non significative (figure 26a). Dans le cas de riz on a constaté que Pour une exposition faible de (100 mg kg⁻¹) la concentration des glucides est très proche de celle du témoin alors que la teneur des glucides étaient plus élevée avec les deux modalités les plus contaminées (200 et 400 mg kg⁻¹). Les teneurs en glucides solubles sont plus importantes dans le cas des plantes associées avec les bactéries à une teneur de 0.3 mmol. g⁻¹ pour le témoin alors que des teneurs de l'ordre de (0.9, 0.137, 0.12 mmol. g⁻¹) pour les doses (100, 200 et 400 mg kg⁻¹) des HAP, le traitement à 200 mg kg⁻¹ provoque une grande accumulation des HAP.

L'application des HAP entraînée une élévation de la teneur en protéines solubles par rapport au témoin (figure 26b). Les plantes non inoculées par les bactéries avaient une augmentation significative (P < 0,05) (tableau 8) de la teneur en protéines à 200 mg kg⁻¹ des HAP. En revanche La teneur en protéine dans la culture de riz inoculées par les bactéries augmenté mais de façon non-significative avec l'exposition au HAP). une augmentation de 28.5% pour les doses (100, 200 mg kg⁻¹) suivi par une réduction de teneur lorsque les plantes ont été exposées par une forte concentration des HAP (400 mg kg⁻¹).

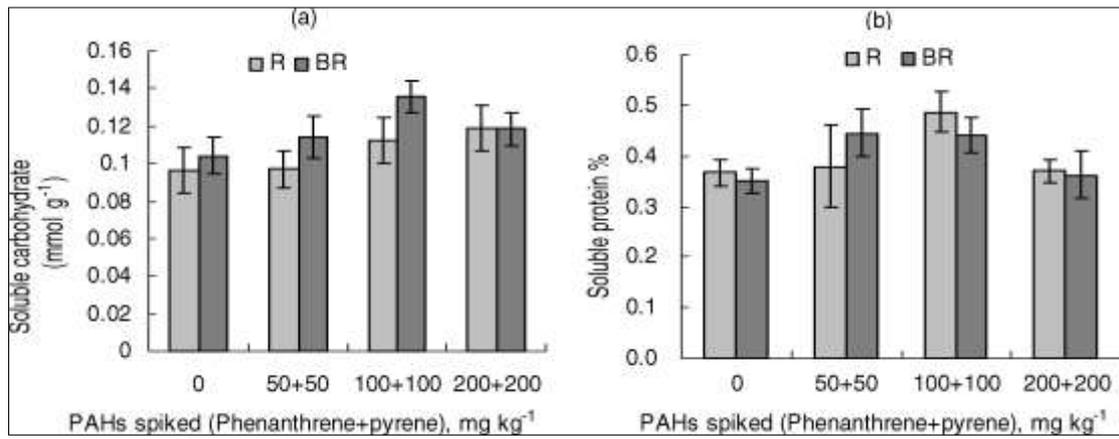


Figure 24 : Effet des HAP et des bactéries dégradant les HAP sur la teneur en (a) des carbohydrates solubles et (b) de protéines solubles dans le riz. R : culture du riz ; BR : culture du riz bactérienne

• **Discussion :**

Dans un premier temps, l'étude de l'effet des Hydrocarbures sur la germination et la croissances des racines d'*Arabidopsis thaliana* , nous a permis de tirer un ensemble des résultats qui sont les suivants :

les hydrocarbures ont un effet toxique sur la germination et la croissance des racines d'*Arabidopsis thaliana*. Cette étude a révélé que les hydrocarbures provoquent une diminution des taux de germination de plante et un rabougrissement et retard de croissance des racines ont également été observés lorsque le sol traité par une dose de (1.00 mM) de phénanthrène. Ce qui confirme l'effet toxique des hydrocarbures sur les végétaux . En effet, la plante elle peut tolérer à une dose de (1.00 mm) de HAP et elle a continué à germer malgré la réduction qui se produit, au contraire une inhibition totale a été observé lorsque la culture d'*Arabidopsis thaliana* exposée a une concentration de (2.00) Mm de phénanthrène. Ces résultats nous laissent supposer que *l'Arabidopsis thaliana* tolère la pollution par les hydrocarbures à certaines doses. (**Agbogidi et Itondu, 2013**) a signalé que l'embryon des semences pourrait avoir été blessé ou tué si elle vient en contact avec le pétrole, qui pourrait être le résultat de couche de pétrole sur la surface de la graine, ce qui affecte les fonctions physiologiques au sein des semences (**M. Sharifi et al., 2007**). D'après (**Luhach et Smita, 2012**) les hydrocarbures peuvent former un film sur la graine, empêcher l'entrée d'oxygène et d'eau et d'hydrocarbures toxiques les molécules pourraient inhiber les activités de l'amylase et de la phosphorylase de l'amidon, ce qui affecte l'assimilation de l'amidon, Ont rapporté que les hydrocarbures Pétrolières constitués de petites molécules et ceux qui sont solubles dans l'eau sont plus phytotoxique pour la germination (**Henner, 1999**).

D'après les résultats obtenus, les hydrocarbures ont un effet nettement négatif sur la longueur des racines d'*Arabidopsis thaliana* cultivées dans le sol contaminé comparées à celles cultivées dans le sol témoin. Selon (**Njoku et al.,2009**), La pollution par le pétrole brut provoque une faible perméabilité et faible infiltration de l'eau dans le sol. Ces conditions peuvent conduire l'accumulation d'eau à la surface du sol et une sécheresse au niveau de la couche souterraine du sol. Cela peut entraîner des difficultés pour les racines à absorber l'eau et les nutriments dissouts dans l'eau. L'absorption de ces éléments peut également être limitée par des molécules hydrophobes, qui peuvent former une couche sur la racine lorsqu'elle est en excès dans le sol. (**Bellout et al., 2016**).

Concernant la plante *Oryza Sativa.L*, les résultats des paramètres physiologiques indiquent que les hydrocarbures provoquent une réduction de la biomasse en particulier dans les traitements avec 400 mg kg⁻¹ des HAP. Des traveaux similaires ont été effectuées par (**Redondo-Gomez et al., 2014**) montrent que l'augmentation de la concentration en diesel entraînerait un effet négatif aggravant sur la croissance de *Sodalitas argentinensis*. L'effet toxique des hydrocarbures sur la biomasse végétale est

peut être dû au manque d'eau et de nutriments. (Agbogidi et Ilondu, 2013) suggèrent que l'interaction négative observée dans le pourcentage de germination, le jour de la germination, le taux de germination ainsi que les paramètres de croissance (hauteur de la plante, nombre de feuilles, diamètre de la tige de la feuille et production de biomasse) pourrait être attribuée aux nombreux hydrocarbures et composés apparentés qui sont toxiques pour les organismes biologiques. (Chaineau *et al.*, 1997) ont également rapporté que l'effet toxique des hydrocarbures sur la biomasse végétale (aérienne et racinaire) s'exprime par un retard significatif de la croissance (diminution de la taille des plants, de leurs feuilles et de leurs racines), cette diminution se traduit par la réduction du poids sec.

Dans la même expérience de riz, une diminutions statistiquement significative, qui a été observée dans la capacité de rétention d'eau dans sols stressé avec les hydrocarbures. Selon (Mortet, 2019) la teneur relative en eau est un paramètre qui décrit la capacité de la plante à se maintenir hydratée en conditions déficitaires, ce qui est confirmé par (Pirzad *et al.*, 2011), qui montrent que le maintien de valeur assez élevée de la teneur en eau relative, en condition de stress, peut résulter de deux mécanismes d'adaptation: le maintien d'une élasticité élevée des tissus ou la diminution de la pression osmotique. (Ramos *et al.*, 2009), ont révélé que les plantes en contact avec une forte concentration de pétrole contenu une faible teneur en humidité dans leur composition en comparaison avec ceux en contact avec une concentration plus faible ou l'absence de pétrole (figure 05). Cela est souvent dû à la nature hydrophobe des hydrocarbures pétroliers qui peuvent repousser l'eau en raison de la polarité. Ainsi, l'eau ne peut pas être distribuée uniformément, ce qui peut alors empêcher l'eau d'être absorbées par les plantes.

D'après les résultats de deux travaux précédents concernant le taux de chlorophylle dans les feuilles des deux plantes le riz (*Oryza sativa.L*) et (*Arabidopsis thaliana*), une diminution a été observé lorsque les plantes soumises a une pollution par les hydrocarbures. (Liu *et al.*, 2009) ont signalé que ROS élevé dans la plante d'*Arabidopsis thaliana* peuvent également avoir contribué directement ou indirectement à la baisse des niveaux de chlorophylle observés, la Photosynthèse a décliné dans ces conditions, ce qui pourrait être une réponse de protection pour limiter la production de sous-produits ROS dans chloroplastes. Dans le cas de riz, une diminution de taux de chlorophylle a été détecté a la dose 400 mg.kg⁻¹ des HAP. L'abaissement de taux de chlorophylle et l'augmentation à rapport chlorophylle a/b indique que les HAP ont un effet inhibiteur sur l'activité photosynthèse de riz. Ces résultats sont accord avec ceux de (Han *et al.*, 2016) qui ont trouvé une diminution de la teneur en chlorophylle dans les plants d'*Amorpha fruticosa* au cours des trois périodes d'échantillonnage avec 26% par une concentration de 5 g.kg⁻¹ de pétrole. d'après (Luhach et Smita, 2012) Les symptômes les plus courants et les plus importants observée dans les plantes contaminées par le pétrole et ses produits drivés comprennent la dégradation de chlorophylle, les altérations le mécanisme stomatique

et la réduction de la photosynthèse et la respiration, l'augmentation de la production de produits liés au stress phytohormones, l'accumulation de substances toxiques ou leurs sous-produits dans le végétal affecter en taille et moins production de biomasse.

Les espèces réactives de l'oxygène sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables: leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants. d'après (**Migdal et serres, 2011**) la plante dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydants, Pour faire face à des des effet toxique des ERO.

Les résultats obtenues pour la plante *Arabidopsis thaliana* montrent que le traitement au phénanthrène a augmenté l'accumulation des H₂O₂ dans tissus foliaires c'est ce qu'il provoque une augmentation de l'activité des enzymes antioxydants la SOD, la POD et l'APX, ainsi que les niveaux de GSH. L'activité de l'enzyme SOD et la teneur en GSH non enzymatique ont augmenté de façon similaire avec une activité maximale correspondant à la dose 1.25 Mm du phénanthrène, en parallèle, l'activité des enzymes POD et APX a diminué mais elle a été toujours supérieure à celle de témoin avec une activité maximale de 0,25 mM. Au contraire l'activité de CAT est restée inchangé à tous les traitements de phénanthrène. Chez le riz, l'activité de SOD a augmenté de manière significative après 80 de l'exposition, concernant l'activité de la POD, elle a augmenté à tous les niveaux des HAP, sauf pour la dose 400 mg.kg⁻¹. donc d'après ces résultats nous constatons que les plantes ont fait face en augmentant les activités des différents antioxydants enzymatiques et non enzymatique. Les résultats obtenues concorde avec ceux de (**Ahmmad et al., 2012**) qui ont remarqué une augmentation induit par le phénathrène de l'activité des enzymes antioxydants SOD,CAT,APX,POD et non enzymatique tel que le glutathion réductase chez la tomate. Plus haut des activités de SOD ont été observées chez des plantes aquatiques exposées au pentachlorophénol (**Roy et Hanninen, 1994**).

Le résultat de la détection histochimique du peroxyde d'hydrogène chez l'*Arabidopsis thaliana* avec la coloration DAB a affirmé l'accumulation des H₂O₂ dans le tissu foliaire d'*Arabidopsis* après un stress par le phénanthrène. Selon (**Foyer et Shigeoka, 2011**) la quantité de H₂O₂ dans les chloroplastes peut augmenter de plusieurs ordres de grandeur pendant un stress. Concernant le produit de peroxydation des lipides MDA a augmenté dans toute la gamme de traitement chez la plante *Arabidopsis thaliana*, ce qui confirme que les ERO en particulier le H₂O₂ ont causé des effets dommageables au niveau de la membrane des cellules. D'après (**Dazy, 2008**) La toxicité liée à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) peut causer des dommages cellulaires, en particulier au niveau des lipides membranaires via le processus de lipoperoxydation et par altération du matériel génétique. Le même type d'expérience a également été mené par (**Di Toppi et al., 1998**). Sur des cultures cellulaires de carottes en utilisant le taux de MDA comme indicateur de l'intégrité cellulaire. Selon (**Prasad, 1999**) la peroxydation lipidique témoigne d'altérations au niveau des membranes plasmiques et mitochondriales et

gènere de nouveaux composés pouvant conduire à des altérations structurelles des organites cellulaires et des perturbations de mécanismes biochimiques et/ou moléculaires comme la photosynthèse, le métabolisme des sucres et acides gras, mais aussi de la respiration mitochondriale.

Les résultats ont révélé que le stress induit par les HAP a augmenté les concentrations de glucides solubles dans tous les cultivars, mais pas de manière significative. selon (MORTET, 2019) La variabilité des teneurs en carbohydrates reflète la capacité des plantes à s'adapter à diverses conditions écologiques comme les divers stress. Des études ont mené que L'accumulation des carbohydrates dans les plantes légumineuses, en réponse au stress, a été documentée dans les espèces de (*Phaseolus. Sp*) et (*Medicago sativa*). Leurs fonctions majeures consistent dans l'osmoprotection, l'ajustement osmotique, le stockage du carbone et le piégeage des radicaux libres. aussi une augmentation a été enregistré par rapport a l'accumulation des protéines chez le riz, (Chaib, 1998) il a souligné queles hydrates de carbone peuvent être des facteurs essentiels dans l'accumulation de la proline, car la synthèse des protéines est liée automatiquement au métabolisme des glucides et à la respiration (dans le cycle de Krebs) par l'intermédiaire l' α -cétoglutarate qui forme le statut carbonique pour la synthèse de la proline. Les protéines de stress jouent un rôle dans l'adaptation de la plante et de ce fait de nombreux chercheurs abordent la résistance au stress par l'isolement et l'étude de ces molécules (Campalans *et al.*, 1999) .

Concernant l'effet des bactéries d'*Acinobactéries.sp* dégradant les HAP sur les réponses de riz, on a constaté que l'inoculation d'*Acinetobactérie .sp* a atténué certains des effets néfastes des HAP sur le riz physiologique et a même stimulé la croissance du riz dans des sols traités par les HAP. Chlorophylle et la teneur en glucides solubles des plants de riz inoculés avec des bactéries a augmenté et la Le rapport chlorophylle a/b a diminué, sauf à 100 mg kg⁻¹ de HAP. Ces résultats montrent l'effet positif des bactéries dégradant les HAP sur les plantes de riz surtout sur l'amélioration de l'activité photosynthétique. Donc on a démontré que l'association des plantes avec des bactéries au niveau de la rhizosphère a amélioré la dégradation des hydrocarbures par la plante. d'après (Siciliano et Germida,1998) les bactéries peuvent augmenter la capacité de dégradation, le potentiel catabolique des plantes ou réduire la phytotoxicité du sol contaminé, elles peuvent former des associations spécifiques dans lesquelles les plantes fournissent aux bactéries une source spécifique de carbone qui amène ces bactéries à réduire la phytotoxicité du sol contaminé. Les résultats obtenus confirmé par les travaux (Anokhina *et al.*, 2004) qui montrent que Les souches de *Pseudomonas* capables de dégrader les HAP ont protégé l'orge de l'action phytotoxique de Phen et et ont favorisé sa dégradation dans cette plante.

Conclusion

Conclusion

La pollution par les hydrocarbures entraîne un risque grave et souvent irréversible pour l'écosystème. Le présent travail a été mené en vue de mettre en évidence l'effet écotoxique de ces composés et d'examiner de différents travaux sur les deux techniques les plus recommandées dans le contexte de la dépollution des sols contaminés par les hydrocarbures « la bioremédiation et la phytoremédiation » .

L'objectif du premier essai de la bioremédiation est l'évaluation de l'efficacité de trois souches bactériennes (*Pseudomonas stutzeri*, *Bacillus simplex* et *Bacillus pumilus*) à dégrader un sol contaminé par quatre groupes des HAP qui sont (le fluorène, phénanthrène, fluoranthène et le pyrène). D'un point de vue fondamental, les résultats obtenus montrent que ces bactéries étaient puissantes seulement pour la dégradation des HAP à trois cycles (le fluorène et le phénanthrène), alors que l'élimination des HAP à quatre cycles (fluoranthène et le pyrène) semble être inhibée, dans cette expérience la souche *Bacillus simplex* a été plus active que les autres souches bactériennes.

Dans le même contexte de la bioremédiation et dans une autre expérience, des essais ont été réalisés par l'utilisation de technique de bioaugmentation qui repose sur l'addition des souches bactériennes (*Bacillus* sp.P4a, *pseudomonas* sp.P6, *Acinetobacterie* sp.P3D) en trois monocultures et en quatre consortiums de cultures mixtes, consortium A (*Bacillus* sp.P4a, *pseudomonas* sp.P6, *Acinetobacterie* sp.P3D) consortium B (*Bacillus* sp.P4a, *Acinetobacterie* sp.P3D), consortiums C (*pseudomonas* sp.P6, *Acinetobacterie* sp.P3D) et consortium D (*Bacillus* sp.P4a, *pseudomonas* sp.P6) dans un sol pollué par le phénanthrène. Les résultats obtenus ont révélés que la combinaison de ces trois souches bactériennes pourrait être efficace pour améliorer la bioremédiation des HAP par rapport au culture bactérienne pure. En outre la culture mixte du consortium A, a été sélectionné comme une culture bactérienne puissante à la bioremédiation des sols pollués par le phénanthrène. Non seulement la bioaugmentation qui a un effet avantageux sur l'accélération de la bioremédiation, la biostimulation aussi a un effet très important pour l'amélioration des résultats de bioremédiation, pour cela on a enrichit notre recherche bibliographique par une autre expérience qui consiste à associer la bioaugmentation par la souche KF453955 d'*Acinetobacterie* SZ-1 avec la biostimulation par des nutriments (l'azote et le phosphore) dans un sol pollué par les hydrocarbures pétroliers. Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence que la meilleure bioremédiation repose sur l'utilisation de ces deux techniques à la fois.

la deuxième partie de travail ayant porté sur l'évaluation de l'effet toxique des HAP sur deux espèces modèles de la même famille des graminées qui ont été utilisées comme des plantes phytoremédiatrices, l'*Arabidopsis thaliana* et le riz (*Oryza sativa.L*). Le but de cette étude réside également dans l'étude des réponses morphologiques, physiologiques et biochimiques de ces espèces aux différentes traitements par des hydrocarbures différents.

L'étude de réponses de la première plante modèle d'*Arabidopsis thaliana* au stress causé par le phénanthrène a permis de tirer les résultats suivants: le phénanthrène a diminué le potentiel germinatif, le volume racinaire et la teneur en chlorophylle a, b et totale de cette plante et donc l'activité photosynthétique de cette plante. L'*Arabidopsis thaliana* a supporté la concentration de 1mM de phénanthrène et elle a continué à développer, en parallèle les résultats ont montré la présence d'un stress oxydatif au niveau des feuilles par l'accumulation des molécules de H₂O₂ et par l'augmentation de niveau de MDA) mais la plante a fait face en développant un système de défense traduit par l'augmentation d'activités des antioxydants enzymatique (SOD, POD, APX) et non enzymatique (GSH).

Pour le cas d' *Oryza sativa.L* et après la plantation de ces plantes dans des sols contaminés par le pyrène plus le phénanthrène, et dans la présence ou l'absence de bactéries dégradantes les HAP(*Acinetobacteria* sp.). Les résultats montrent que la plante de riz était très sensible pour les niveaux les plus élevés de stress par les HAP tandis que ces plantes avaient une bonne tolérance aux niveaux inférieurs de stress. d'après les résultats, et à l'échelle physiologique, l'effet du stress par les HAP se traduit par, une réduction de la biomasse, et de la teneur en eau ainsi une baisse a été observé au niveau de l'activité photosynthétique. L'inoculation avec des bactéries dégradantes par les HAP a favorisé la croissance et la photosynthèse du riz. Et en ce qui concerne les caractéristiques biochimiques, la présence des HC dans le sol a stimulé l'activité de l'enzyme antioxydant SOD et augmenté la teneur en protéines solubles, c'est ce qui montre la capacité de riz à résister et à tolérer au stress hydrocarbonés. L'inoculation des bactéries dégradantes les HAP a favorisé la tolérance des plante de riz grâce à leur effet avantageux sur la croissance et la l'activité photosynthétique de ces plantes. Au regard de ces résultats, on peut considérer ces deux plantes comme deux modèles intéressants dans le protocole de la phytoremédiation.

En fin on peut conclure que la bioremédiation et la phytoremédiation sont des méthodes efficaces pour la décontamination des sols pollués par les hydrocarbures et la combinaison de ces deux technique pourraient donner des résultats très satisfaisants

Références bibliographiques

- **Abdelly, C. (2007).** Bioremédiation/Phytoremédiation. *Université de Tunis , département des sciences naturelles.*
- **Agbogidi, O. M., et Ilondu, E. M. (2013).** Effects of spent engine oil on the germination and seedling growth of *Moringa oleifera* (Lam.)
- **Ahammed, G. J., Choudhary, S. P., Chen, S., Xia, X., Shi, K., Zhou, Y., et Yu, J. (2013).** Role of brassinosteroids in alleviation of phenanthrene–cadmium co-contamination-induced photosynthetic inhibition and oxidative stress in tomato. *Journal of experimental botany*, 64(1), 199-213. an aquatic plant *Eichhornia crassipes*. *Environ. Toxicol. Chem.* 13, 763–773.
- **Alam, M., et Jha, D. K. (2020).** Reviewing antagonistic actinomycetes in the era of drug resistance. *Journal of Critical Reviews*, 7(15), 3120-3135.
- **Ali ahmed, S. (2011).** Essai de réhabilitation d'un sol contaminé par les hydrocarbures à l'aide de tensioactifs obtenus par voie biologique (*Doctoral dissertation*).
- **Anokhina, T. O., Kochetkov, V. V., Zelenkova, N. F., Balakshina, V. V., et Boronin, A. M. (2004).** Biodegradation of phenanthrene by *Pseudomonas* bacteria bearing rhizospheric plasmids in model plant–microbial associations. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 40(6), 568-572.
- **Antizar-Ladislao, B. (2010).** Bioremediation: working with bacteria. *Elements*, 6(6), 389-394.
- **Aouar, L. (2006).** Mise en évidence des actinomycètes aérobies pathogènes impliqués dans les infections traitées au service des maladies infectieuses du CHU de Constantine. *Etude des caractéristiques culturales des souches isolées et purifiées. Mémoire de Magister.: Sc. de Biochimie et Microbiologie appliquées. Constantine: Université Mentouri Constantine.*
- **Babak, p., ebrahim, m., ajit, v. (2013).** An Introduction to Bioremediation. Ramin Agriculture and Natural Resources University.
- **Belley-Vézina, V. (2014).** Vers un traitement durable des sols au Québec: possibilités et perspectives des traitements in situ des sols contaminés aux hydrocarbures (*Doctoral dissertation, Université de Sherbrooke*).
- **Bellout, Y., Khelif, L., Guivarch, A., Haouche, L., Djebbar, R., Carol, P., et Abrous Belbachir, O. (2016).** Impact of edaphic hydrocarbon pollution on the morphology and physiology of pea roots (*Pisum sativum* L.). *Applied ecology and environmental research*, 14(2), 511-525.
- **Bentahar S.,(2017).**Efficiencie de l'utilisation de l'eau chez le blé dur :Etude des mécanismes physiologiques et moléculaires(Protéines Aquaporines) :Définition d'idéotype. *Thèse de doctorat. Université des frère mentouri.*
- **Bert, V., et Deram, A. (1999).** Guide des phytotechnologies. Utilisation des plantes dans la dépollution et la réhabilitation des sites contaminés par les métaux lourds. *Ed. Environnement et développement alternatif.*

- **Bes, C. (2008).** Phytoremédiation des sols d'un site de traitement du bois contaminés par le cuivre (*Doctoral dissertation, Université des Sciences et Technologies (Bordeaux I)*).
- **Bidaud, C. (1998).** Biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Approche microbiologique et application au traitement d'un sol pollué (Doctoral dissertation).
- **Bocard, C. (2006).** Marées noires et sols pollués par des hydrocarbures: enjeux environnementaux et traitement des pollutions. *Editions TECHNIP*.
- **Bois, P. (2010).** Développement d'un procédé de traitement de matrices d'origine viticole polluées par des herbicides par couplage bioaugmentation/phytoremédiation: sélection d'un triplet «bactéries-sorbant-plante» testé en microcosme (*Doctoral dissertation*).
- **Bosco, F., Casale, A., Mazzarino, I., Godio, A., Ruffino, B., Mollea, C., et Chiampo, F. (2020).** Microcosm evaluation of bioaugmentation and biostimulation efficacy on diesel-contaminated soil. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 95(4), 904-912.
- **Boudreau, L., M. Sinotte et M. A. Defo, Melcc (2019).** Revue de littérature sur les critères de qualité d'eau de surface pour les hydrocarbures pétroliers – réalisé dans le cadre de l'évaluation environnementale stratégique (Étude AENV14), Québec, ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, Direction générale du suivi de l'état de l'environnement, ISBN : 978-2-550-83277-5, 28 p. + 2 annexes.
- **Brooijmans, R. J., Pastink, M. I., & Siezen, R. J. (2009).** Hydrocarbon-degrading bacteria: the oil-spill clean-up crew. *Microbial biotechnology*, 2(6), 587.
- **Campalans, A., Messeguer, R., Goday, A., Pagès, M., (1999).** Plant responses to drought, from ABA signal transduction events to the action of the induced proteins. *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 37 (5): 327-340.
- **Centre d'expertise en analyse environnementale du québec. (2015).** Hydrocarbures pétroliers : caractéristiques, devenir et criminalistique environnementale – Études GENV222 et GENV23, Évaluation environnementale stratégique globale sur les hydrocarbures. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 41 p. et annexes.
- **Chaib, G., (1998).** Teneur en proline chez les différents organes de blé dur (*Triticum durum* Desf). Essai d'explication des conditions d'accumulation sous manque d'eau. *Thèse de Doctorat. Université de Constantine: 103*.
- **Chaillan, F., Chaineau, C. H., Point, V., Saliot, A., and Oudot, J. (2006).** Factors inhibiting bioremediation of soil contaminated with weathered oils and drill cuttings. *Environmental Pollution*, 144(1), 255-265
- **Chaineau C H, Morel J L. et Oudot J., (1997) .** Phytotoxicity and plant Uptake of Fuel Oil hydrocarbons. *J. Environ. Qual.* V26. PP :1478-1483.

- **Chikere, C. B., Okpokwasili, G. C., et Chikere, B. O. (2011).** Monitoring of microbial hydrocarbon remediation in the soil. *3 Biotech*, 1(3), 117-138..
- **Cicolella, A. (2008).** Les composés organiques volatils (COV): définition, classification et propriétés. *Revue des maladies respiratoires*, 25(2), 155-163.
- **Colombano, S., Saada, A., Victoire, E., Guerin, V., Blanc, C., Zornig, C., ... et Widory, D. (2012).** Nature des produits pétroliers et origine du vieillissement: tentative de l'identification de la source via la prise en compte des impacts et l'analyse de l'âge approximatif des déversements.
- **Costes, J. M., et Druelle, V. (1997).** Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement: la réhabilitation des anciens sites industriels. *Revue de l'institut français du Pétrole*, 52(4), 425-440.
- **Crone, M. (2001).** Diagnostic de sols pollués par des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) a l'aide de la spectrophotométrie UV (*Doctoral dissertation*).
- **Cui, J., Chen, H., Sun, M., et Wen, J. (2020).** Comparison of bacterial community structure and function under different petroleum hydrocarbon degradation conditions. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 43(2), 303-313.
- **Cunningham, C. J., et Philp, J. C. (2000).** Comparison of bioaugmentation and biostimulation in ex situ treatment of diesel contaminated soil. *Land Contamination and Reclamation*, .
- **Cunningham, S. D., et Berti, W. R. (1993).** Remediation of contaminated soils with green plants: an overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 29(4), 207-212.
- **Cunningham, Scott D., Berti, William R., et Huang, (1995).** Jianwei W. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in biotechnology*, vol. 13, no 9, p. 393-397.
- **da Silva, S., Gonçalves, I., Gomes de Almeida, F. C., Padilha da Rocha e Silva, N. M., Casazza, A. A., Converti, A., et Asfora Sarubbo, L. (2020).** Soil Bioremediation: Overview of Technologies and Trends. *Energies*, 13(18), 4664.
- **Dabouineau, Laurent, Lamy, Yann, et Collas, Philippe. (2005).** Phytoremédiation et phytorestauration ou l'utilisation des plantes pour la dépollution et l'épuration des eaux usées. *Le rôle d'eau*, vol. 124, p. 8-15.
- **Dazy, M. (2008).** Caractérisation de la colonisation spontanée par les plantes de sols pollués: rôle des systèmes cellulaires de détoxification (*Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz*).
- **Deschênes, L. (1995).** Impact de surfactants biologiques et du SDS sur la mobilisation et la biodégradation des HAP contenus dans un sol contaminé à la créosote (*Doctoral dissertation, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique*).

- **Di Toppi, L.S., Lambardi, M., Pazzagli, L., Cappugi, G., Durante, M., Gabbrielli, R., (1998).** Response to cadmium in carrot *in vitro* plants and cell suspension cultures. *Plant Sci.* 137, 119-129.
- **Díaz, E. (2004).** Bacterial degradation of aromatic pollutants: a paradigm of metabolic versatility.
- **DU, V. D. L. O., et CHIMIE, M. E (2016).** Bioremediation des sols pollués par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (hap) étude de cas de la région de tsimiroro.
- **Dufresne, M. (2013).** *Les technologies de traitement des sols contaminés: Lesquelles sont durables?* (Doctoral dissertation, éditeur non identifié).
- **Dupuis, A., et Ucan-Marin, F. (2015).** Analyse documentaire de la toxicologie aquatique des huiles de pétrole: un aperçu des propriétés du pétrole et de ses effets sur le biote aquatique. *Canadian Science Advisory Secretariat= Secrétariat canadien de consultation scientifique.*
- **Ebadi, A., Sima, N. A. K., Olamaee, M., Hashemi, M., et Nasrabadi, R. G. (2017).** Effective bioremediation of a petroleum-polluted saline soil by a surfactant-producing *Pseudomonas aeruginosa* consortium. *Journal of advanced research*, 8(6), 627-633.
- **El Fantroussi, S., et Agathos, S. N. (2005).** Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation?. *Current opinion in microbiology*, 8(3), 268-275.
- **Faham, L. (2013).** Techniques de traitement in situ des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les eaux de surface (Doctoral dissertation, Université de Sherbrooke).
- **Fazilah, A., Ismail, N., et Darah, I. (2020, May).** Biodegradation of PAH-polluted soil by indigenous bacteria. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 494, No. 1, p. 012002). IOP Publishing
- **Feknous Nesrine, MICROBIOLOGIE, E. (2017).** Essais d'isolement et d'identification des souches bactériennes à pouvoir auto-épurateur vis-à-vis des hydrocarbures (Doctoral dissertation, université badji mokhtar-annaba).
- **Foyer, C. H., et Shigeoka, S. (2011).** Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant physiology*, 155(1), 93-100. grass species to creosote during phytoremediation. *Environ. Pollut.* 130, 453–463.
- **Franck Repflim la phytoremediation des sols pollués par les métaux, (2000).** DESS Ingénierie Documentaire, Rapport de recherche bibliographique, Laboratoire d'écophysiologie végétale Université Sciences et Techniques de Saint-Etienne
- **Gabet, S. (2004).** Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique (Doctoral dissertation, Limoges).
- **Gbeddy, G., Goonetilleke, A., Ayoko, G. A., & Egodawatta, P. (2020).** Transformation and degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

in urban road surfaces: Influential factors, implications and recommendations. *Environmental Pollution*, 257, 113510.

- **Gelin, S., et Stengel, P. (1998).** Sol: interface fragile. *Editions Quae*
- **Gennadiev, A. N., Pikovskii, Yu I., tsibart, A. S., et al. (2015).** Hydrocarbons in soils: origin, composition, and behavior. *Eurasian Soil Science*, vol. 48, no 10, p. 1076-1089.
- **Ghnaya, A. B., Charles, G., Hamida, J. B., et Branchard, M. (2006).** Phytoremédiation: apport de la sélection in vitro pour l'obtention de Colza (*Brassica napus* L.) tolérant aux métaux toxiques. *Geo-Eco-Trop*, 30, 69-86.
- **Glick, B. R. (2010).** Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology advances*, 28(3), 367-374.
- **Gouhier, V. A. N. E. S. S. A. (2014).** Résilience des écosystèmes après un déversement d'hydrocarbures. *Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec*. 57p.
- **Guermouche m'rassi, A. (2014).** Caractérisation moléculaire des bactéries impliquées dans la biodégradation des hydrocarbures (Doctoral dissertation, *Thèse de Doctorat. Université d'Oran*. 153p).
- **Guo, Y., Rene, E. R., Wang, J., et Ma, W. (2020).** Biodegradation of polyaromatic hydrocarbons and the influence of environmental factors during the co-composting of sewage sludge and green forest waste. *Bioresource Technology*, 297, 122434.
- **Hamdi, H., Benzarti, S., Manusadžianas, L., Aoyama, I., et Jedidi, N. (2007).** Bioaugmentation and biostimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(8), 1926-1935
- **Han, G., Cui, B. X., Zhang, X. X., et Li, K. R. (2016).** The effects of petroleum-contaminated soil on photosynthesis of *Amorpha fruticosa* seedlings. *International journal of environmental science and technology*, 13(10), 2383-2392.
- **He, J. (2005).** Impacts environnementaux de l'industrialisation et du commerce international en Chine: cas de l'émission industrielle de SO₂ (*Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, CERDI, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France*).
- **Henner, P. (2000).** Phytoremédiation appliquée au traitement de sols contaminés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques (*Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine*).
- **Hesnawi, R. M., et Adbeib, M. M. (2013).** Effect of nutrient source on indigenous biodegradation of diesel fuel contaminated soil. *Apcbee Procedia*, 5, 557-561.
- **Hoff, R. Z. (1993).** Bioremediation: an overview of its development and use for oil spill cleanup. *Marine pollution bulletin*, 26(9), 476-481.
- **Huang, X.D., Yousef, E.A., Donna, M.P., Bernard, R.G., et Bruce, M.G. (2004).** Responses of three

- **Jalilian, N., Najafpour, G. D., et Khajouei, M. (2020).** Macro and Micro Algae in Pollution Control and Biofuel Production—A Review. *ChemBioEng Reviews*, 7(1), 18-33.
- **Jean-Michel, G. (2007).** La vie du sol Jardiner durablement, *Éditions Ulmer*.
- **Johnsen, A. R., Wick, L. Y., et Harms, H. (2005).** Principles of microbial PAH-degradation in soil. *Environmental pollution*.
- **Kamath, R., Rentz, J. A., Schnoor, J. L., & Alvarez, P. J. J. (2004).** Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils: principles and applications. In *Studies in surface science and catalysis* (Vol. 151, pp. 447-478). Elsevier.
- **Khobragade, V. B., et Kulkarni, S. D. (2019).** Alteration in Physico-chemical Properties and Microbiological Analysis of Soil from various Hydrocarbon Contaminated sites across Maharashtra.
- **Kirpichtchikova, T. (2009).** Tatiana. *Phytoremédiation par Jardins Filtrants d'un sol pollué par des métaux lourds: Approche de la phytoremédiation dans des casiers végétalisés par des plantes de milieux humides et étude des mécanismes de remobilisation/immobilisation du zinc et du cuivre*. 2009. Thèse de doctorat.
- **Koshlaf, E., et Ball, A. S. (2017).** Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments. *AIMS microbiology*, 3(1), 25.
- **Krein, A., et Schorer, M. (2000).** Road runoff pollution by polycyclic aromatic hydrocarbons and its contribution to river sediments. *Water Research*, 34(16), 4110-4115.
- **Kumar, N. M., Muthukumar, C., Sharmila, G., et Gurunathan, B. (2018).** Genetically modified organisms and its impact on the enhancement of bioremediation. In *Bioremediation: Applications for Environmental Protection and Management* (pp. 53-76). Springer, Singapore.
- **Lang, F. S., Destain, J., Druart, P., Ongena, M., et Thonart, P. (2016).** Les microorganismes dans le maintien de l'équilibre et la réhabilitation des écosystèmes de mangrove pollués par les hydrocarbures. *Revue bibliographique. International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(5), 2268-2284.
- **Le Gentil, E. (2009).** Pollution par les hydrocarbures en Manche et golfe de Gascogne. Risques et prévention entre 1960 et 2004 (*Doctoral dissertation*).
- **Lefebvre, G. (1978).** Chimie des hydrocarbures. Editions Technip.
- **Leglize, P. (2004).** Etude des interactions bactéries-phénanthrène-charbon actif en vue de l'élaboration d'une barrière perméable réactive (*Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1*).
- **Li, J. H., Gao, Y., Wu, S. C., Cheung, K. C., Wang, X. R., et Wong, M. H. (2008).** Physiological and biochemical responses of rice (*Oryza sativa L.*) to phenanthrene and pyrene. *International journal of phytoremediation*, 10(2), 106-118.

- **Liu, H., Weisman, D., Ye, Y. B., Cui, B., Huang, Y. H., Colón-Carmona, A., et Wang, Z. H. (2009).** An oxidative stress response to polycyclic aromatic hydrocarbon exposure is rapid and complex in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, 176(3), 375-382.
- **Louati, H. (2013).** Etude de la biorémédiation de sédiments contaminés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques: impact écologique sur la microflore et la méiofaune de la lagune de Bizerte (*Doctoral dissertation*).
- **Luhach jyoti, Smita chaudhry , (2012).** Effect of Diesel Fuel Contamination on Seed Germination and Growth of Four Agricultural Crops, *Universal Journal of Environmental Research and Technology*. pp 312-314
- **M. SHARIFI, Y. SADEGHI, M. AKBARPOUR,(2007).** Germination and growth of six plant species on contaminated soil with spent oil ,Razi University, Centre for Environmental Studies, Department of Biology, Bagh Abrisham, 67149, Kermanshah, Iran pp469-480.model plant–microbial associations. *Appl. Biochem. Micro.* 40, 568–572.
- **Martin, F. (2011).** Exploration de la biodiversité bactérienne dans un sol pollué par les hydrocarbures: analyse par marquage isotopique du potentiel métabolique et de la dynamique des communautés impliquées dans la dégradation (*Doctoral dissertation*).
- **Meagher, R. B. (2000).** Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Current opinion in plant biology*, 3(2), 153-162..
- **Migdal, C., et Serres, M. (2011).** Espèces réactives de l’oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- **MOEZ, Shiri. (2014)** . Réponses physiologiques, antioxydantes et métabolomiques de *Thellungiella salsuginea* et *Arabidopsis thaliana* à l’interaction salinité modérée-phénanthrène: application à la phytoremediation des HAPs par les halophytes. 2014. *Thèse de doctorat*. Rennes 1
- **Mohamed, N., et Abdelmajid, H.(2016).** Les techniques de dépollution des sols contaminés par les métaux lourds: une revue.(The remediation techniques of heavy metals contaminated soils: a review).
- **Morel, J. L. (2012).** La phytoremediation des sols contaminés: des plantes pour guérir les sols. *EDP Sciences, Collection Chimie et Nature*.
- **MORTET, A. (2019).** Etude du rôle de quelques plantes graminées et légumineuses dans la phytoremediation des sols pollués par les hydrocarbures (*Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis*).
- **Mougin, C. (2002).** Bioremediation and phytoremediation of industrial PAH-polluted soils. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 22(5), 1011-1043.
- **Nasseri, S., Kalantary, R., Nourieh, N., Naddafi, K., Mahvi, A., et Baradaran, N. (2010).** Influence of bioaugmentation in biodegradation of PAHs-contaminated soil in bio-slurry phase reactor. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 7(3), 199-208.

- **Nguemte, P. M. (2019).** Phytoremédiation des sols pollués par les hydrocarbures: inventaires floristiques, évaluation des performances des espèces végétales et modélisation du transfert sol-plante des HAP (*Doctoral dissertation, Université de Strasbourg; Université de Yaoundé I*).
- **Nguemté, P., Wafo, G. V., Djocgoue, P., Kengne Noumsi, I., et Wanko Ngnien, A. (2017).** Phytoremédiation de sols pollués par les hydrocarbures—évaluation des potentialités de six espèces végétales tropicales. *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 30(1), 13-19.
- **Njoku k., Akinola O. et Oboh B O., (2000) .** Phytoremediation of crude oil contaminated soil. *Edition marslandpress*. 85p.
- **Njoku, K. L., Akinola, M. O., et Oboh, B. O. (2009).** Phytoremediation of crude oil contaminated soil: the effect of growth of Glycine max on the physico-chemistry and crude oil contents of soil.
- **Norini M-P., (2007).** Eco-dynamique des hydrocarbures aromatiques polycycliques et des communautés microbiennes dans les sols à pollution mixte (HAP, métaux) avant et après traitement par biopile et par désorption thermique. Thèse de Doctorat, *université Henri Poincaré, Nancy I*. 303p.
- **Nouri, M., et Haddioui, A. (2016).** Les techniques de dépollution des sols contaminés par les métaux lourds: une revue (The remediation techniques of heavy metals contaminated soils: a review). *Maghrebien Journal of Pure and Applied Science*, 2(2), .
- **Origo, Nadia, Wicherek, Stanislas, et Hotyat, Micheline. (2012).** Réhabilitation des sites pollués par phytoremédiation. [*VertigO*] *La revue électronique en sciences de l'environnement*, vol. 12, no 2.
- **Ouvrard, S. (2016).** Phytoremédiation des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les sols industriels: de la rhizodégradation à la rhizoatténuation (*Doctoral dissertation, Université de Lorraine (Nancy)*).
- **Perrodin, Y. (2004).** *Etude de la mobilité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) contenus dans un sol industriel pollué (Doctoral dissertation, INSA de LYON)*.
- **Pierre Roger et Vincent Jacq (2000).** Introduction à la bioremédiation des sols, des eaux et de l'air. Université de Provence AIX Marseille 1 E.S.G.B.M.A - E.S.I.L Lumin y.Laboratoire de Microbiologie IRD.Institut de Recherche pour le Développement IRD (ex ORSTOM).99p.
- **Pimsee, P. (2014).** Étude du comportement des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) lors du déversement accidentel d'hydrocarbures en eaux continentales (*Doctoral dissertation*).
- **Prasad, M.N.V., (1999).** Heavy metal stress in plants: from biomolecules to ecosystems. *Springer- Verlag, Berlin-Heidelberg*, 462 pp.
- **Prasad, R., et Varma, A.(2010).** Soil Microbial Diversity in Relation to Heavy Metals.
- **Rabodonirina, S., Rasolomampianina, R., Krier, F., Drider, D., Merhaby, D., Net, S., et Ouddane, B. (2019).** Degradation of fluorene and phenanthrene

- in PAHs-contaminated soil using *Pseudomonas* and *Bacillus* strains isolated from oil spill sites. *Journal of environmental management*, 232, 1-7.
- **Rainelli, P. (1996).** Pollution des sols: problèmes économiques. *Etude et Gestion des Sols*, 3(4), 307-317..
 - **Ramadass, K., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., et Naidu, R. (2018).** Bioavailability of weathered hydrocarbons in engine oil-contaminated soil: Impact of bioaugmentation mediated by *Pseudomonas* spp. on bioremediation. *Science of The Total Environment*, 636, 968-974.
 - **Ramos, D. T., Maranhão, L. T., Godoi, A. F. L., da Silva Carvalho Filho, M. A., Lacerda, L. G., et de Vasconcelos, E. C. (2009).** Petroleum hydrocarbons rhizodegradation by *Sebastiania commersoniana* (BAILL.) *LB SM. et Downs. Water, Air, et Soil Pollution: Focus*, 9(3-4), 293-302.
 - **Raveh-Amit, H., et Tsesarsky, M. (2020).** Biostimulation in Desert Soils for Microbial-Induced Calcite Precipitation. *Applied Sciences*, 10(8), 2905.
 - **Redondo-Gomez, S., Petenello, M.C., Feldman, S.R., (2014).** Growth, nutrient status, and photo-synthetic response to diesel-contaminated soil of a cordgrass, *Spartina argentinensis*. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 79: 34-38.
 - **Roy, S. et Hanninen, O. (1994).** Pentachlorophenol: Uptake/elimination kinetics and metabolism in an aquatic plant, *Eichhornia crassipes*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 13(5), 763-773.
 - **Saada, A., Nowak, C., et Coquereau, N. (2004).** État des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures–Rapport intermédiaire, Résultat de la phase 1. *Étude réalisée dans le cadre des opérations de Service public du Bureau de recherches géologiques et minières (BRGM)*.
 - **Saier, Milton H. et Trevors, J. T. (2010).** Phytoremediation. *Water, Air, and Soil Pollution*, vol. 205, no 1, p. 61-63.
 - **San Miguel, A. (2011).** Phytoremédiation des organochlorés. Etude mécanistique et fonctionnelle des capacités épuratrices du système plante-rhizosphère (*Doctoral dissertation*).
 - **Sasson, A. (1967).** Recherches écophysiologicals sur la flore bactérienne de sols de régions arides du Maroc. *Travaux de l'institut scientifique cherifien et de la faculté des sciences*.
 - **Schneider, P., et Zerouali, M. (2016).** Thème.
 - **Sephton, M. A., and Hazen, R. M. (2013).** On the origins of deep hydrocarbons. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 75(1), 449-465.
 - **Siciliano, S. D., et Germida, J. J. (1998).** Mechanisms of phytoremediation: biochemical and ecological interactions between plants and bacteria. *Environmental Reviews*, 6(1), 65–79.
 - **Simmons, R., Qadir, M., et Drechsel, P. (2011).** Mesures mises en œuvre aux champs pour réduire les risques pour la santé humaine et l'environnement liés aux constituants chimiques des eaux usées. *L'irrigation avec des eaux usées et la santé*, 227.

- **Simonnot, m. O., et Croze, v. (2008).** Procédés de traitements physiques et chimiques des sols pollués.
- **Sims, J. L., Sims, R. C., et Matthews, J. E. (1990).** Approach to bioremediation of contaminated soil. *Hazardous waste and hazardous materials*, 7(2), 117-149.
- **Singh, A., et Ward, O. P. (Eds.). (2004).** *Applied bioremediation and phytoremediation* (Vol. 1). Springer Science & Business Media.
- **Singh, S. K., et Haritash, A. K. (2019).** Polycyclic aromatic hydrocarbons: soil pollution and remediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1-24.
- **Si-Zhong, Y., Hui-Jun, J., Zhi, W., Rui-Xia, H. E., Yan-Jun, J. I., Xiu-Mei, L. I., et Shao-Peng, Y. U. (2009).** Bioremediation of oil spills in cold environments: a review. *Pedosphere*, 19(3), 371-381.
- **Soltani, M. (2004).** Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries gram-négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone (*Doctoral dissertation*).
- **Spiegel, J., et Maystre, L. Y. (1998).** Chapitre 55-La lutte contre la pollution de l'environnement.
- **Susarla S, Medina VF, McCutcheon SC. (2002).** Phytoremediation: An ecological solution to organicchemical contamination. *Ecological Engineering*. 18, 647-658.
- **Técher, D. (2011).** Réhabilitation de sols pollués par des HAP grâce aux bactéries associées à la rhizosphère de *Miscanthus x giganteus* (*Université Paul Verlaine-Metz*)
- **Trably, E. (2002).** Etude et optimisation de la biodégradation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs) et de Polychlorobiphényles (PCBs) au cours de la digestion anaérobie et aérobie de boues urbaines contaminées (*Doctoral dissertation, Université Montpellier 2 (Sciences et Techniques)*).
- **ULaval, 2008.** combustibles.fossiles.rtf [WWW Document]. URL
- **Vavasseur, Alain, richaud, Pierre, et Misson-pons, Julie. (2009).** Des plantes pour depolluer ou stabiliser des elements toxiques dans les sols et les eaux. *Biofutur*, no 295, p. 23
- **Weissenfels, W. D., Beyer, M., et Klein, J. (1990).** Degradation of phenanthrene, fluorene and fluoranthene by pure bacterial cultures. *Applied microbiology and biotechnology*, 32(4), 479-484
- **Wu, M., Dick, W. A., Li, W., Wang, X., Yang, Q., Wang, T., ... Chen, L. (2016).** Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 107, 158–164.
- **Www.selecdepol.fr.** Fiches techniques des différentes méthodes de dépollution par le BRGM

- **Zhao, J., Han, L., Yu, M., Cao, P., Li, D., Guo, X., ... et Xiang, W. (2019).** Characterization of *Streptomyces sporangiiformans* sp. nov., a Novel Soil Actinomycete with Antibacterial Activity against *Ralstonia solanacearum*. *Microorganisms*, 7(9), 360

Résumé

Les hydrocarbures pétroliers en particulier les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des polluants organiques très nocifs sur les êtres vivants et l'environnement. Par conséquent il est évident de développer de stratégies pratiques d'assainissement pour décontaminer les sites fortement touchés, parmi lesquelles nous pouvons noter: les méthodes physiques, chimiques, thermiques et biologiques. Actuellement les méthodes biologiques sont les plus innovantes. Dans ce travail on a examiné les méthodes biologiques « la bioremédiation et phytoremédiation », et démontré la capacité des microorganismes et des plantes supérieures pour accumuler transformer les hydrocarbures, et leur importance dans l'assainissement des sols pollués.

Concernant la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures, des essais ont été effectués, le premier essai consiste à utiliser trois souches bactériennes (*Pseudomonas stutzeri*, *Bacillus simplex* et *Bacillus pumilus*) afin d'examiner leurs capacités de dégradation de quatre groupes des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) à 3 et 4 cycles (fluorène, phénanthrène, fluoranthène et pyrène) pendant 72 jours.

Et pour approfondir nos connaissances sur l'avantage de la bioaugmentation dans la bioremédiation on a enrichi nos recherches par une expérience qui sert à déterminer l'importance de cette technique dans la dépollution des sols pollués par le phénanthrène, cette expérience a été réalisée par l'utilisation de trois bactéries suivantes (*Bacillus* sp.P4a, *pseudomonas* sp.P6, *Acinetobacterie* sp.P3D) en trois monocultures et en quatre consortiums de cultures mixtes, pendant 30 jours de culture. un autre essai menée à évaluer l'impact de la bioaugmentation avec la souche KF453955 d'*Acinetobacterie* SZ-1 et de la biostimulation avec des nutriments (azote et phosphore) sur l'efficacité de la dégradation des hydrocarbures pétroliers pendant 10 semaines.

Pour la phytoremédiation, notre travail met en évidence les effets des hydrocarbures sur les potentialités de croissance et la capacité de tolérance de deux espèces, l'une est représentée par la plante d'*Arabidopsis thaliana* et l'autre espèce nommée le riz (*Oryza sativa.L*). Les plantes d'*Arabidopsis thaliana* ont été semées pendant 30 jours, sous des différents traitements de phénanthrène (0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25 mM), et en ce qui concerne des plantes de riz, ont été cultivées dans un sol pollué par le phénanthrène plus de pyrène avec trois concentrations différentes (100, 200, 400 mg.kg⁻¹) en présence et en absence des bactéries dégradant les HAP (*Acinetobacterie* sp.), afin d'étudier les paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques de chaque espèce. Ces réponses peuvent être un grand indicateur de tolérances de ces deux plantes au stress causé par les hydrocarbures. A cet égard, nous pouvons considérer l'*Arabidopsis thaliana* et le riz *Oryza sativa.L*, comme des modèles intéressants dans la phytoremédiation.

Mots clés : Hydrocarbures, HAP, bioremédiation, phytoremédiation, microorganismes, plantes, bioaugmentation, biostimulation

Abstract

Petroleum hydrocarbons, in particular polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), are organic pollutants that are very harmful to living beings and the environment. Therefore it is obvious to develop practical remediation strategies to decontaminate heavily affected sites, among which we can note: physical, chemical, thermal and biological methods. Currently biological methods are the most innovative. In this work we have examined the biological methods "bioremediation and phytoremediation", and demonstrated the capacity of microorganisms and higher plants to accumulate and transform hydrocarbons, and their importance in the remediation of polluted soils.

Regarding the bioremediation of soils polluted by hydrocarbons, tests have been carried out, the first test consists of using three bacterial strains (*Pseudomonas stutzeri*, *Bacillus simplex* and *Bacillus pumilus*) to examine their ability to degrade four groups of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) with 3 and 4 rings (fluorene, phenanthrene, fluoranthene and pyrene) for 72 days.

And in order to deepen our knowledge about the advantage of bioaugmentation in bioremediation we have enriched our research with an experiment to determine the importance of this technique in the remediation of soils polluted by phenanthrene. This experiment was carried out using the following three bacteria (*Bacillus* sp.P4a, *pseudomonas* sp. P6, *Acinetobacteria* sp.P3D) in three monocultures and in four consortiums of mixed cultures, for 30 days of culture. Another trial was conducted to evaluate the impact of bioaugmentation with *Acinetobacteria* SZ-1 strain KF453955 and biostimulation with nutrients (nitrogen and phosphorus) on the efficiency of the degradation of petroleum hydrocarbons for 10 weeks.

For phytoremediation, our work highlights the effects of hydrocarbons on the growth potentialities and the tolerance capacity of two species, one is represented by the *Arabidopsis thaliana* plant and the other species named rice (*Oryza sativa*.L). *Arabidopsis thaliana* plants were sown for 30 days, under different phenanthrenic treatments (0.25 , 0.50 , 0.75 , 1.00 , 1.25 mM), and in the case of rice plants, were grown in soil polluted by phenanthrenic plus pyrene with three different concentrations (100 , 200 , 400 mg.kg⁻¹) in the presence and in absence of PAH-degrading bacteria (*Acinetobacteria* sp. These responses can be a great indicator of the tolerances of these two plants to the stress caused by hydrocarbons. In this respect, we can consider *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*.L as interesting models in phytoremediation.

Keywords : Hydrocarbons , PAH, bioremediation, phytoremediation, microorganisms , plants , bioaugmentation , biostimulation .

المخلص

الهيدروكربونات البترولية وخاصة الهيدروكربونات العطرية المتعددة الدورات هي ملوثات عضوية ضارة للغاية على الكائنات الحية والبيئة. ولذلك فمن الواضح أن نضع استراتيجيات عملية لمعالجة التلوث في المواقع المتضررة بشدة، ومن بينها: الطرق الفيزيائية والكيميائية والحرارية والبيولوجية. وفي الوقت الحالي، تعتبر الطرق البيولوجية أكثر الطرق ابتكارا. وقد بحث هذا العمل الأساليب البيولوجية «المعالجة البيولوجية والمعالجة النباتية»، واطهار قدرة الكائنات الدقيقة والنباتات على تجميع و تحويل المواد الهيدروكربونية، وأهميتها في معالجة التربة الملوثة.

بالنسبة لعملية المعالجة البيولوجية للتربة الملوثة بالهيدروكربون، أجريت عدة اختبارات بهذا الخصوص، يستند الاختبار الأول على استخدام ثلاث سلالات جرثومية (*Pseudomonas stutzeri* *Bacillus simplex* et *Bacillus pumilus*) لفحص قدرتها على التحليل لأربع مجموعات من الهيدروكربونات العطرية المتعددة الحلقات (HAP (fluorène, phénanthrène, fluoranthène et pyrène), مدة 72 يوم .

ولتعميق معرفتنا حول ميزة التعزيز الحيوي في المعالجة الحيوية، قمنا بإثراء بحثنا بتجربة تفيد في تحديد أهمية هذه التقنية في إزالة تلوث التربة الملوثة بالفينثرين، تم إجراء هذه التجربة باستخدام ثلاثة بكتيريات التالية أربع اتحادات مختلطة، لمدة 30 يوماً. تجربة أخرى لتقييم تأثير التعزيز الحيوي باستخدام *Pseudomonas* sp.p6, *Acinetobacterie* sp.p3D, *Bacillus* sp.P4a و *Acinetobacterie* SZ-1 سلالة KF453955 و التحفيز الحيوي بإضافة المواد المغذية (النيتروجين والفسفور) في القدرة على تحليل الهيدروكربونات النفطية خلال عشرة أسابيع.

بالنسبة للمعالجة النباتية، يسלט عملنا الضوء على تأثيرات الهيدروكربونات على إمكانات النمو والقدرة على التحمل لنوعين، أحدهما يمثل نبات *Arabidopsis thaliana* والنوع الآخر يسمى الأرز *Oryza sativa*.L زرعت نباتات *Arabidopsis thaliana* لمدة 30 يوماً، تحت معاملات مختلفة من الفينثرين (0.25، 0.50، 0.75، 1.00، 1.25 ملم)، وفيما يتعلق بنباتات الأرز، تمت زراعتها في التربة الملوثة بواسطة الفينثرين بالإضافة إلى البيرين مع ثلاثة تراكيز مختلفة (100، 200، 400 مغ / كغ) في وجود وغياب البكتيريا المحللة للهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات *Acinetobacterie* sp. وهذا من أجل دراسة المعلمات المورفولوجية والفسولوجية والكيميائية الحيوية لكل منها، يمكن أن تكون هذه الاستجابات أيضا مؤشرا كبيرا على تحمل هذين النباتين للإجهاد الناجم عن الهيدروكربونات، وفي هذا الصدد، يمكننا اعتبار *Arabidopsis thaliana* و *Oryza sativa*.L كنماذج مثيرة للاهتمام في المعالجة النباتية.

الكلمات المفتاحية: الهيدروكربونات، الهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات، المعالجة الحيوية، المعالجة النباتية، الكائنات الحية الدقيقة، النباتات، التعزيز الحيوي، التحفيز الحيوي.