

# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique.

Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Département des Sciences de la Nature et de la Vie.



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière: "Sciences Biologiques"

Spécialité: "Microbiologie Appliquée à l'Environnement"

Présenté et soutenu publiquement par

AIT YAHIA Ikram & KAVULA Vagheni Gyslaine

## Bioremédiation d'un sol contaminé par les hydrocarbures

Le: 18/ 06/ 2017

Membres du jury:

- |                                    |     |
|------------------------------------|-----|
| -Président : M. TAIBI K.           | MCA |
| -Promoteur : Mme AIT ABDERRAHIM L. | MAA |
| -Examineur : M. OUADAH S.          | MAA |

Année universitaire : 2016 - 2017

## Remerciements

En préambule à ce mémoire nous remercions ALLAH qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Nous souhaitant adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

On tient à exprimer toute notre reconnaissance à notre directrice de mémoire Madame AIT ABDERRAHIM L. On la remercie de nous avoir encadré, orienté, et conseillé.

Nos remerciements vont aussi aux membres du jury; M. TAIBI K. et M. OUADEH S. qui ont bien voulu évaluer et examiner la qualité de ce travail

Nos remerciements vont aussi à notre responsable de Master M. SASSI M.

On n'oublie pas nos parents qui ont toujours été là pour nous soutenir et nous encourager.

Enfin, nous adressons nos remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes

*AIT YAHIA Ikram*  
*KAVULA VAGHENI Gyslaine*

## **Dédicace**

*Je dédie ce travail à ma Mère, ma source de tendresse, de patience et de générosité, qui était toujours là pour moi et m'a toujours soutenu et encouragé. A mon défunt papa qui a tant attendu ce moment et que j'aurai aimé qu'il soit présent avec nous aujourd'hui. J'espère être à la hauteur de ses attentes.*

*A mes sœurs Wiem, Nadira, Kenza et mon frère Yacine.*

*A mon grand père Remdhan, ma grand mère et mes tantes.*

*A mes cousins Nabil et Nassim*

*Enfin à tous mes amis que j'aime tant Ilyes, Ghani, Farid et Gyslaine pour leur amitié sincère et leur confiance, et à qui je dois ma reconnaissance et mon attachement.*

*A tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.*

***AIT YAHIA Ikram***

## **Dédicace**

*Louange et gloire à Dieu qui m'a donné la force, le courage et l'intelligence pour pouvoir rédiger ce mémoire. Béni soit son nom*

*Je dédie ce travail à mon aimable père André PALUKU KAVULA qui me pousse toujours à aller de l'avant et qui m'a soutenu spirituellement, financièrement, moralement durant tout mon cursus scolaire*

*A ma chère mère Georgette CHIHANZA RUKENGE qui est ma source d'inspiration et de courage, celle qui a fait de moi cette brave femme. Sans ses prières incessantes et ses encouragements je n'aurai pu arriver jusqu'au bout, je t'offre ce travail qui est aussi le fruit de tes efforts*

*A ma tendre sœur Céline KAVULA pour ses prières et pour son amour*

*Aux membres de ma famille, qui de près ou de loin, m'ont beaucoup soutenu et cru en moi*

*A Madame AIT ABDERRAHIM Leila, mon encadreur, que je considère comme modèle de part son sens du travail et de l'organisation, son charisme et sa patience*

*Aux Frères Cappucins Mariusz, Hubert, René de la paroisse Sainte Madeleine de Tiaret*

*A mes amies de la cité Karmane pour leur présence et leur soutien*

*A tous mes amis de la communauté de la paroisse Sainte Madeleine de Tiaret*

*A tous ceux que j'aime, je vous dédie ce travail*

*A ma camarade AIT YAHIA Ikram avec qui nous avons réalisé ce travail*

**Vagheni Gyslaine KAVULA**

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	2
<b>Figure 2.</b> Protocole expérimental.....	4
<b>Figure 3.</b> Taux de matière organique dans les sols étudiés.....	14
<b>Figure 4.</b> Cultures obtenues après ensemencement à partir des sols inoculés.....	16

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Matériels utilisés.....	3
<b>Tableau 2.</b> Méthode ANNE pour la détermination de la matière organique.....	7
<b>Tableau 3.</b> Microorganismes isolés à partir des sols pollués par l'essence et le gasoil.....	9
<b>Tableau 4.</b> Normes d'interprétation de la matière organique.....	14
<b>Tableau 5.</b> Germination des graines d'haricot dans les sols étudiés.....	18

# Table des matières

- Liste des figures.....	I
- Liste des tableaux.....	II

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **I. Matériel et méthode**

1. Objectif du travail.....	2
2. Matériels et méthodes.....	2
2.1. Matériel.....	2
2.1.1. Matériel végétal.....	2
2.1.2. Matériel physique.....	2
2.1.3. Matériels de laboratoire.....	3
2.2. Méthode.....	4
2.2.1. Protocole expérimental.....	4
2.2.2. Isolement et purification des microorganismes.....	5
a. Echantillonnage des sols pollués par l'essence et le gasoil.....	5
b. Préparation des suspensions de sol.....	5
c. Ensemencement sur milieux de culture.....	5
d. Isolement et purification.....	5
e. Observation macroscopique et microscopique.....	5
2.2.3. Evaluation de la capacité des microorganismes isolés à dégrader l'essence et le gasoil dans le sol .....	6
a. Echantillonnage du sol non contaminé par les hydrocarbures.....	6
b. Stérilisation du sol.....	6
c . Evaluation de la biodégradation des hydrocarbures.....	6
1.Détermination du taux de carbone et de la matière organique.....	6
2. Contrôle de la viabilité des souches inoculées.....	8
3. Semis des graines d'haricot dans les sols.....	8

## **II. Résultats et discussion**

1. Microorganismes isolés à partir des sols pollués par l'essence et le gasoil.....	9
2. Evaluation de la capacité des microorganismes isolés à dégrader l'essence et le gasoil dans le sol.....	14
2.1. Taux de carbone et matière organique (essence, gasoil).....	14
2.2. Viabilité des souches inoculées.....	15
2.3. Semis des graines d'haricot.....	16

<b>Conclusion.....</b>	<b>21</b>
------------------------	-----------

### **Références bibliographiques**

### **Résumé**



# **Introduction**

### Introduction

Les hydrocarbures pétroliers ont existé avant même que l'homme ait développé des capacités technologiques à les récupérer de la terre et à les utiliser comme source d'énergie (Lakshmi, 2013). Ils constituent la majeure source d'énergie pour les industries et la vie quotidienne bien que les fuites et les déversements accidentels induits lors de l'exploitation, la production, le raffinage, le transport ainsi que le stockage du pétrole et ses composés conduisent à une pollution de l'environnement (Agarry et Latinwo, 2015).

Les produits pétroliers et leurs dérivés constituent le principal polluant organique du sol et des eaux souterraines limitant ainsi l'utilisation de ces derniers et causant de sérieux risques pour la santé humaine. Ce type de pollution est aussi responsable de la diminution de la production agricole du sol ainsi générant des pertes économiques (Solano *et al.* 2001; Sharma *et al.* 2014).

De nos jours, il est devenu nécessaire de faire face aux problèmes liés à la pollution des sols. L'assainissement des sites pollués par le pétrole peut être accompli par des méthodes physico-chimiques ou biologiques. Cependant, en raison des conséquences négatives des méthodes physico-chimiques (décontamination incomplète des polluants générant parfois des composés plus toxiques que la molécule mère), une attention particulière est accordée à l'exploitation des alternatives biologiques ces deux dernières décennies (Malik et Ahmed, 2012).

La bioremédiation est une approche prometteuse pour la dégradation des hydrocarbures dans le sol par le fait qu'elle est moins onéreuse et peut conduire à la minéralisation complète des contaminants (Kothari *et al.* 2013). Cette technique se base sur le fait que les micro-organismes se développant dans un sol pollué y trouvent des conditions favorables et utilisent notamment ce polluant comme source d'énergie et de carbone, et sera par conséquent dégradé (Chedly, 2007). Parmi ces techniques, la bioaugmentation consiste à ajouter des micro-organismes sous forme de souche pure ou en consortium (mélange de microorganismes) dans la zone polluée afin d'augmenter la biodégradation des contaminants (Bécaert, 1999). Les micro-organismes ajoutés peuvent être étrangers au sol ou indigènes. Dans le second cas, les microorganismes sont isolés du sol dans lequel ils sont déjà acclimatés au contaminant, cultivés *ex situ* puis réintroduits (Roudier, 2005).

Il n'existe aucun microorganisme individuel capable de dégrader seul les composants du pétrole brut. Dans la nature, cette dégradation nécessite l'intervention de plusieurs espèces microbiennes dans un consortium. La combinaison des propriétés catalytiques de plusieurs souches est requise pour une dégradation complète de ce polluant (Malik et Ahmed, 2012).

Par ailleurs, l'utilisation des plantes bioindicatrices s'avère très utile pour surveiller la pollution du sol du fait que la plante est elle-même intégrée dans l'environnement où elle vit. Plusieurs paramètres liés à la plante, tels que la réponse morpho-physiologique ou la croissance, peuvent renseigner directement sur l'état du sol et son degré de pollution (Lima *et al.* 2000). Le haricot *Phaseolus vulgaris* est une plante très utilisée dans l'indication de la pollution de l'air par les gaz toxiques ainsi que celle des sols par les métaux lourds et les herbicides entre autres (Rosa Franco *et al.* 2016).

Dans cette optique, ce travail s'articule sur deux volets : premièrement l'isolement et la purification de quelques souches microbiennes à partir d'un sol pollué par les hydrocarbures (essence et gasoil). Deuxièmement, l'inoculation des souches isolées, séparément, puis en consortium dans des sols artificiellement pollués par l'essence et le gasoil afin d'étudier leur capacité à dégrader ces polluants. Enfin, l'état du sol est apprécié par l'utilisation d'une plante bioindicatrice le *Phaseolus vulgaris* (haricot).

# **Partie expérimentale**

# **Matériels et Méthodes**

---

## Matériel et méthode

### 1. Objectif du travail

Le but de notre travail est d'isoler et purifier quelques souches microbiennes à partir d'un sol pollué par les hydrocarbures (essence, gasoil). Par la suite inoculer chaque souche à part et en consortium dans des sols artificiellement pollués par de l'essence et du gasoil afin d'étudier leur capacité à biodégrader ces polluants. Enfin, on utilisera une plante bioindiatrice (*Phaseolus vulgaris*) de la pollution du sol afin d'évaluer l'état de celui-ci.

### 2. Matériels et méthodes

#### 2.1. Matériel

##### 2.1.1. Matériel végétal

Le haricot *Phaseolus vulgaris* (fig. 1) a été utilisé comme plante bioindiatrice de la pollution du sol par les hydrocarbures. C'est une plante sensible à croissance rapide très utilisée dans les études portant sur la détection de la pollution de l'air et du sol (Rosa Franco *et al.* 2016).



**Figure 1.** *Phaseolus vulgaris*

##### 2.1.2 Matériel physique

Le sol utilisé lors de cette étude a été prélevé au niveau de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie.

### 2.1.3. Matériels de laboratoire

Les matériels et produits utilisés sont cités dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Matériels utilisés

Appareils	Incubateur (Mettler), four Pasteur (Mettler), autoclave, balance analytique, réfrigérant, bain Marie, microscope optique (Zeiss), Bec Bunsen, agitateur magnétique (IKA labortechnik)
Produits et réactifs	Violet de Gentiane, fuchsine, lugol, éthanol, bichromate de potassium ( $K_2CrO_7$ ), acide sulfurique concentré ( $H_2SO_4$ ), acide phosphorique ( $H_3PO_4$ ), biphénylamine ( $C_{12}H_{11}N$ ), sel de Mohr [ $(NH_4)_2FeSO_4 \cdot 6H_2O$ ], sulfate d'ammonium ( $NH_4SO_4$ ), phosphate de potassium monobasique ( $KH_2PO_4$ ), phosphate de potassium dibasique ( $K_2HPO_4$ ), sulfate de magnésium ( $MgSO_4$ ).
Verrerie	Pipettes Pasteur, pipettes graduées, tubes à essai, boîte de Petri, burette, éprouvette, flacon, fiole jaugée, bécher, lames
Milieux de culture	Gélose nutritive, Gélose King B, gélose Sabouraud

#### ➤ Milieux de culture

##### a. Gélose Nutritive

Milieu de culture générale, apportant les éléments nutritifs nécessaires à la croissance d'un grand nombre de microorganismes ne présentant pas d'exigences particulières. Il est utilisé essentiellement en microbiologie pour la culture de certains microorganismes en vue de leur purification et préalable aux étapes d'identification (Biokar, 2005).

##### b. Gélose King B

Utilisée pour isoler les *Pseudomonas*. Elle permet la production de fluorescéine (ou pyoverdine) pigment jaune vert fluorescent sous une lumière ultraviolette par certains *Pseudomonas* notamment *Pseudomonas aeruginosa* produisant ce pigment contrairement aux autres espèces qui n'en produisent pas (Biokar, 2003).

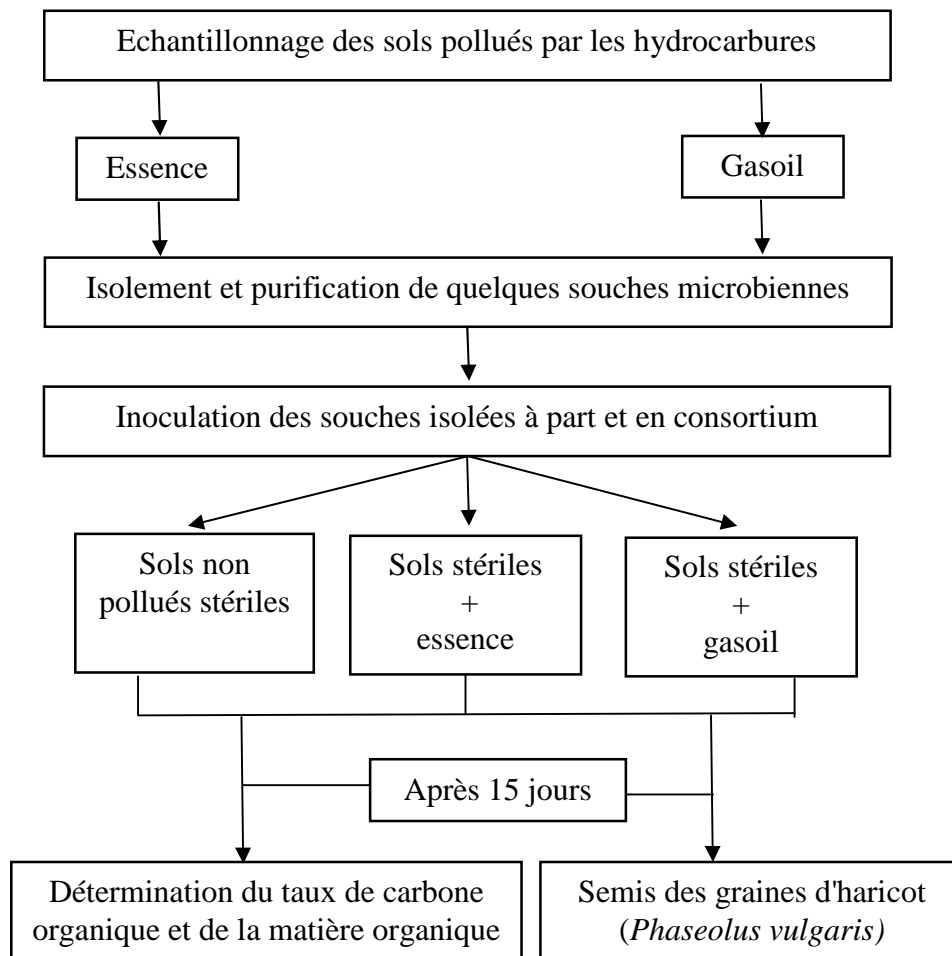
### c. Gélose Sabouraud

C'est un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes dans des prélèvements peu chargés en bactéries (Guillaume, 2004).

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Protocole expérimental

Le protocole suivi lors de ce travail est décrit dans la figure 2.



**Figure 2.** Protocole expérimental



## **2.2.2. Isolement et purification des microorganismes**

### **a. Echantillonnage des sols pollués par l'essence et le gasoil**

L'échantillonnage des sols pollués par l'essence et le gasoil a été fait au niveau la station service NAFTAL dans la région de Tiaret, Algérie, en face de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Deux échantillons de sol ont été prélevés à environ 10 cm de profondeur dans deux points différents de la station service : le premier, à proximité de la pompe à essence et le deuxième à proximité de la pompe à gasoil.

### **b. Préparation des suspensions de sol**

Des suspensions ont été préparées à partir des sols prélevés en mélangeant une quantité de ceux-ci avec de l'eau distillée stérile. Afin de diminuer la charge microbienne dans les suspensions, nous avons procédé à des dilutions.

### **c. Ensemencement sur milieux de culture**

Les suspensions de sols ont été ensemencées sur la gélose nutritive pour l'isolement des bactéries et sur la gélose Sabouraud pour l'isolement des champignons puis incubées à 37 °C pendant 72 h.

### **d. Isolement et purification**

Après incubation, on a procédé à des repiquages successifs sur la gélose nutritive, la gélose Sabouraud et la gélose King B (pour isoler les *Pseudomonas*) jusqu'à l'obtention de cultures pures.

### **e. Observation macroscopique et microscopique**

Pour chaque culture pure obtenue, on a observé l'aspect macroscopique des colonies formées sur la gélose à savoir: la couleur, la taille, la forme, l'aspect, la consistance, les bords et le relief pour les bactéries et les levures. Cependant, pour les moisissures, on a noté la forme, l'aspect, la présence de gouttelette d'exsudats et la couleur du mycélium au recto et au verso de la boîte.

L'observation microscopique a été faite après coloration de Gram concernant les bactéries et après coloration simple pour les champignons (levure et moisissure). En effet, la coloration de Gram permet de différencier les bactéries en Gram positif et Gram négatif selon la composition et la structure chimique de leurs parois (Moussi, 2014). L'observation au microscope permet aussi de distinguer la forme et le mode de regroupement des cellules bactériennes. Concernant les champignons, l'observation au microscope après coloration simple permet de distinguer la forme des cellules ainsi que le mode de bourgeonnement

pour les levures et le type d'hyphe (cloisonnée ou siphonnée), la couleur des cellules, les organes de fructification et les spores pour les moisissures (Lecellier, 2013).

### **2.2.3. Evaluation de la capacité des microorganismes isolés à dégrader l'essence et le gasoil dans le sol**

#### **a. Echantillonnage du sol non contaminé par les hydrocarbures**

Le sol utilisé, pour l'étude de l'aptitude des microorganismes isolés à dégrader l'essence et le gasoil, a été prélevé au niveau de la faculté des sciences de la nature et de la vie (université de Tiaret) en évitant les cailloux. Par la suite, le sol a été séché à température ambiante afin d'éliminer toute humidité.

#### **b. Stérilisation du sol**

Afin d'évaluer la capacité de chaque souche microbienne à dégrader l'essence et le gasoil, il est nécessaire de stériliser le sol afin d'éliminer la présence de tout autre organisme qui nuirait à cette appréciation. Ainsi, nous avons procédé à la stérilisation du sol par trois autoclavages successifs, au bout de 3 jours afin de nous assurer de l'élimination de toute forme de résistance (ex : spore) des microorganismes.

#### **c. Evaluation de la biodégradation des hydrocarbures**

Des gobelets en carton nous ont servi de supports dans lesquels nous avons réalisé les essais. En nous référant au protocole de Sharma *et al.* (2014), plusieurs échantillons de 100 g de sols stériles secs ont été pollués avec 10 ml de gasoil et essence individuellement puis laissés pendant 30 min. Chaque sol pollué par l'un des hydrocarbures est inoculé avec 3 ml de suspension microbienne à une densité de 0.5 McFarland ( $10^8$  cellules/ ml) puis le tout est bien mélangé. Chaque souche est testée seule puis un mélange de toutes les souches est utilisé afin d'étudier l'activité biodégradante du consortium. Les échantillons de sols sont incubés pendant 15 jours à température ambiante, chaque deux jours les sols sont mélangés pour permettre leur aération. Des sols témoins à savoir non stériles, stériles, stériles inoculés avec les différentes souches et stériles additionnés d'essence/ gasoil ont été utilisés. Après le 3<sup>ème</sup> jour, des nutriments ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $NH_4SO_4$ ,  $K_2HPO_4$ ,  $KH_2PO_4$ ) sont ajoutés aux sols afin de favoriser la croissance des microorganismes.

#### **1. Détermination du taux de carbone et de la matière organique**

La détermination du carbone organique total (COT) nous permet d'évaluer la quantité de matière organique présente dans des échantillons de sols et de sédiments (CEAEQ, 2014). Pour la détermination du taux de carbone, nous avons utilisé la méthode de ANNE combinant l'oxydation de la matière organique d'un échantillon de sol par un excès de dichromate de potassium (8g dans 100 ml d'eau distillée) en milieu sulfurique à

ébullition par la suite la titration par le sel de Mohr (78,42g dans 1 L d'eau distillée) en retour de l'excès de dichromate de potassium en présence d'un indicateur (biphénylamine) (LSV, 2007).

➤ **Procédure (tableau 2)**

- peser 1g de sol et le placer dans un erlenmeyer
- ajouter 10 ml de dichromate de potassium et 15 ml d'acide sulfurique concentré
- adapter le mélange à un réfrigérant: attendre que la 1<sup>ère</sup> goutte de condensation tombe puis compter 5 min avant d'enlever l'erlenmeyer contenant le mélange
- laisser refroidir
- transvaser le mélange dans une fiole jaugée de 250 ml et ajouter de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge
- ne prélever que 50 ml qu'on transvase dans un erlenmeyer
- ajouter 1,5 ml d'acide phosphorique pour rendre plus sensible le virage de couleur
- pipetter 3 à 4 gouttes de diphenylamine, qui est un indicateur virant la solution à une couleur bleue violette
- titrer le mélange au sel de Mohr, jusqu'à ce que la couleur devienne bleue verdâtre
- noter le volume V de sel de Mohr utilisé









N.B: le témoin est réalisé avec les mêmes étapes mais sans ajout de sol pour obtenir le volume V'.

Le calcul du pourcentage de la teneur en carbone est:  $\% C = (V' - V) \times 0,6$

Le pourcentage de la teneur en matière organique (MO) est:  $\% MO = \% C \times 1,72$

**Tableau 2.** Méthode ANNE pour la détermination de la matière organique

1. Ajout du bichromate de potassium au sol	2. Ajout de l'acide sulfurique concentré	3. Adaptation du mélange au réfrigérant
		

<p>4. Après refroidissement, transvaser dans une fiole de 250 ml</p> 	<p>5. Compléter avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge</p> 	<p>6. Prélever 50 ml</p> 
<p>7. Tranvaser dans un erlenmeyer</p> 	<p>8. Ajout de l'acide phosphorique</p> 	<p>9. Ajout de quelques gouttes de biphénylamine virant la couleur au noir</p> 
<p>10. Titrage au sel de mohr</p> 		<p>11. Virage au bleu verdâtre</p> 

## 2. Contrôle de la viabilité des souches inoculées

Nous avons procédé à un ensemencement à partir de tous les sols étudiés sur les milieux de culture adéquats après le temps imparti de biodégradation. L'observation macroscopique des cultures obtenues nous a permis de déterminer la viabilité des souches inoculées.

## 3. Semis des grains d'haricot dans les sols

Le semis des grains d'haricot a été effectué dans les sols (pollués et témoins), à raison de 3 graines par pot, après 15 jours de l'inoculation des microorganismes afin d'évaluer leur état. La toxicité ou l'innocuité des sols sont évaluées à travers la germination des graines et l'évaluation de la croissance de la plante.



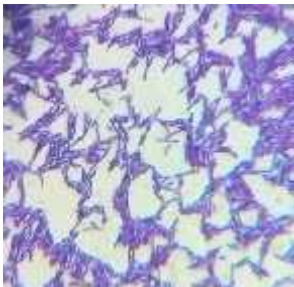

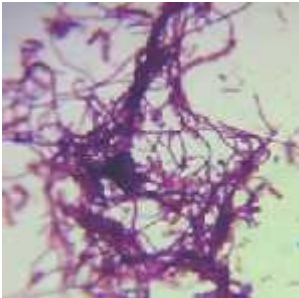

# **Résultats et Discussion**

## Résultats et discussion

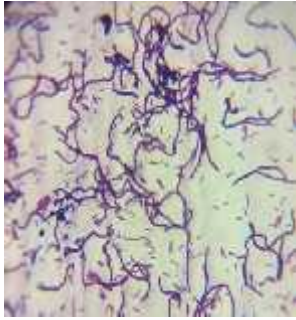

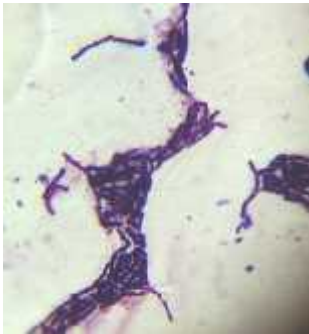

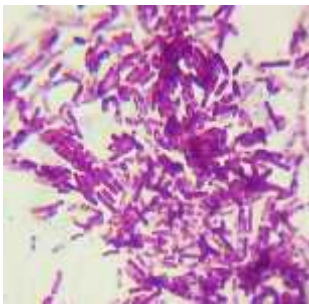



### 1. Microorganismes isolés à partir des sols pollués par l'essence et le gasoil

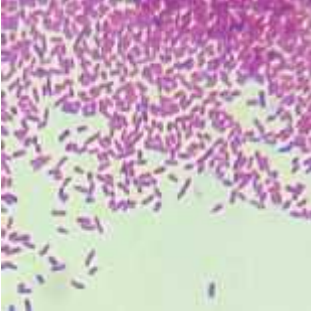

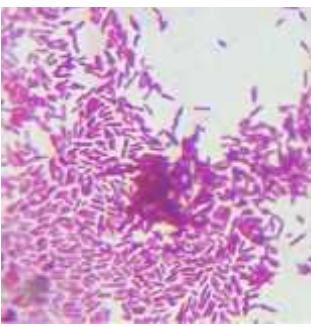

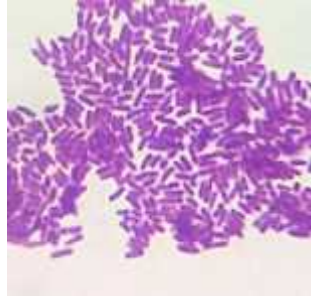



Après ensemencement et purification, nous avons isolé 13 souches microbiennes dont deux champignons (une levure et une moisissure) ainsi que 11 souches bactériennes (tableau 3).

**Tableau 3.** Microorganismes isolés à partir des sols pollués par l'essence et le gasoil

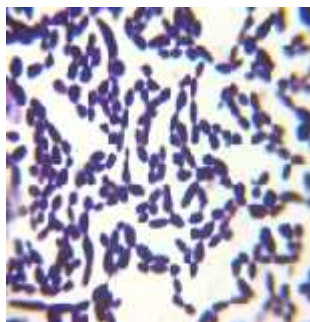



Aspect microscopique	Aspect macroscopique	Description
<b>Bactéries</b>		
	 Souche 1	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies blanches, à bords réguliers et crémeuses</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Bacilles Gram+ isolés</p> <p><b>Genre présumé</b> Bacillus</p>
	 Souche 2	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies blanches, à bords irréguliers et crémeuses</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Petit bacilles Gram+ en amas</p> <p><b>Genre présumé</b> Bacillus</p>
	 Souche 4	<p><b>Aspect macroscopique</b> Petites colonies blanches, rondes à bords irréguliers et crémeuses</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Bacilles Gram+ filamenteux</p> <p><b>Genre présumé</b> Actinobactéries</p>



	 <p style="text-align: center;">Souche 7</p>	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies blanches, rondes, sèches et crémeuses</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Bacilles filamenteux, Gram +</p> <p><b>Genre présumé</b> Actinobactéries</p>
	 <p style="text-align: center;">Souche 8</p>	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies blanches, rondes crémeuses.</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Longs bacilles Gram+ en chainettes</p> <p><b>Genre présumé</b> Bacillus / Actinobactérie</p>
	 <p style="text-align: center;">Souche 9</p>	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies blanches, plates et crémeuses.</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Bacilles Gram+, sporulés, regroupés en amas</p> <p><b>Genre présumé</b> Bacillus</p>
	 <p style="text-align: center;">Souche 10</p>	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies translucides vertes, collantes. Changement de la couleur du milieu de culture au vert.</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Petit bacilles Gram- isolés.</p> <p><b>Genre présumé</b> Pseudomonas</p>

	 <p style="text-align: center;">Souche 11</p>	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies jaunes-vertes, translucide, collante Changement de couleur du milieu de culture au vert. et aspect transparent</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Petits bacilles Gram- isolés</p> <p><b>Genre présumé</b> Pseudomonas</p>
	 <p style="text-align: center;">Souche 12</p>	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies jaunes-vertes, translucides. Changement de couleur du milieu de culture et aspect transparent</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Bacilles Gram-</p> <p><b>Genre présumé</b> Pseudomonas</p>
	 <p style="text-align: center;">Souche ps11</p>	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies blanches, plates et crémeuses.</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Petits bacilles Gram+ en palissade</p> <p><b>Genre présumé</b> Bacillus</p>
	 <p style="text-align: center;">Souche ps 13</p>	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies jaunes-vertes. Changement de couleur du milieu de culture au vert.</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Bacilles fins Gram- en amas.</p> <p><b>Genre présumé</b> Pseudomonas</p>



<b>Champignons</b>		
	 Levure	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonies de couleur blanche et crémeuses.</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Grande cellules ovalaires</p> <p><b>Type présumé</b> Levure</p>
	 Moisissure	<p><b>Aspect macroscopique</b> Colonie blanche et brune. Aspect cotonneux, avec présence des fines gouttelettes d'eau.</p> <p><b>Aspect microscopique</b> Hyphes non cloisonnés avec une tête ronflée entourée de spores ovalaires.</p> <p><b>Genre présumé</b> <i>Rhizopus</i></p>

La plupart des souches bactériennes isolées appartiennent aux genres *Bacillus*, *Pseudomonas* et actinobactéries. Deux champignons ont aussi été isolés l'un étant une moisissure du genre *Rhizopus* et le deuxième étant une levure.

En effet, les quantités de pétrole absorbées par les sols, exercent, avec le temps, une sélection sur les microorganismes *in situ*. Dans ces environnements, la diversité microbienne diminue et seules les souches capables d'utiliser les hydrocarbures survivent. Dans notre cas ceci peut expliquer la prédominance des microorganismes isolés, sur le reste des populations, mais sans pour autant négliger l'importance de chaque membre de la communauté microbienne qui fonctionne en consortium (Adel *et al.* 2016). Cependant, la présence des bactéries en plus grande quantité peut être expliquée par le fait que les bactéries sont les organismes les plus répandus dans les sols et que parmi les genres les plus représentés : les *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Clostridium* et les **actinobactéries**. Elles sont aptes à se développer sur les hydrocarbures et restent qualitativement et quantitativement prépondérantes pour métaboliser ces

substrats (Bidaud, 1998). Leur présence peut être aussi due au fait que certaines d'entre elles (*Bacillus* et certaines actinobactéries) produisent des spores qui une fois trouvent le milieu adéquat se développent (Gaudu, 2014). La dégradation des hydrocarbures est accomplie grâce à un système enzymatique approprié et/ou en excréant des biosurfactants qui aident dans le processus de biodégradation comme chez certains *Bacillus* (Guergour, 2010). Les *Pseudomonas* spp, connus également pour leur aptitude à dégrader les hydrocarbures produisent des biosurfactants qui vont solubiliser les hydrocarbures les rendant plus disponibles aux autres bactéries et faciliter par la suite la biodégradation (Adel *et al.* 2016). Les bactéries attaquent aussi les hydrocarbures par l'intermédiaire d'une dioxygénase et conduit à la formation de cis-dihydrodiols. Une oxydation ultérieure mène à la formation du catéchol qui se dégrade à son tour (Belfadel et Chami, 2015).

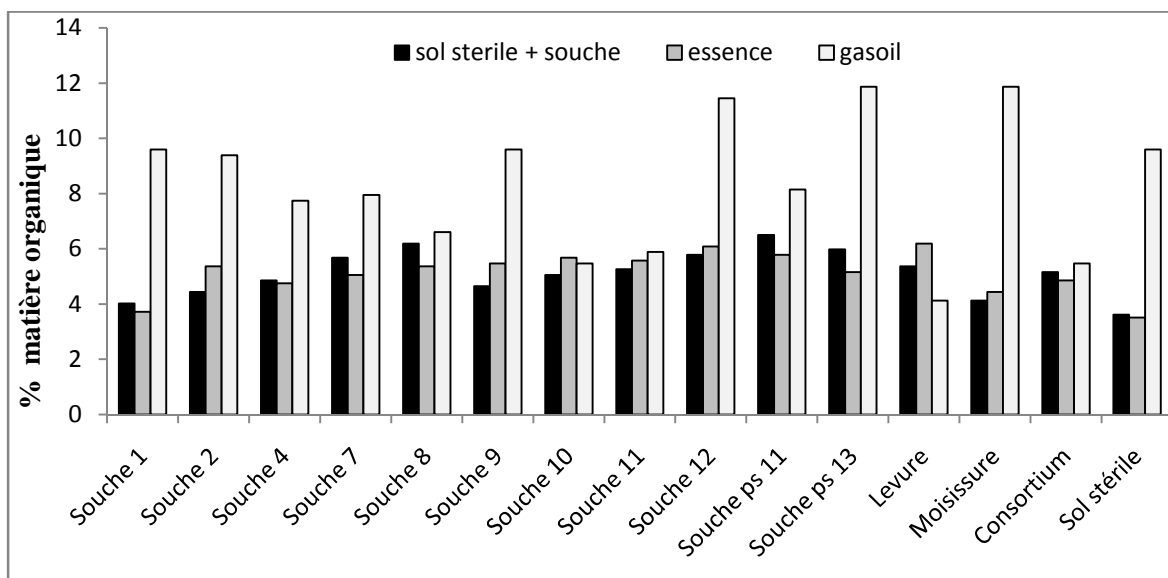
Outre les bactéries, les champignons notamment ceux du genre *Penicillium* ont déjà été rapportés prédominant lors de différents isolements à partir des sols pollués par les hydrocarbures (Fayeulle, 2013). D'autres espèces fongiques connues dans la dégradation des produits pétroliers appartiennent aux genres : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Candida*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gliocladium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Pleurotus*, *Polyporus*, ***Rhizopus***, *Rhodotolura*, *Saccharomyces*, *Talaromyces* et *Torulopsis* (Vanishree *et al.* 2014). Plusieurs mécanismes sont impliqués dans la dégradation des hydrocarbures aromatique polycycliques (HAP) par les champignons. Ce sont majoritairement des cométabolismes c'est-à-dire une dégradation sans bénéfice direct de matière ou d'énergie pour l'organisme qui en est responsable. Ces processus nécessitent ainsi l'utilisation d'autres substrats en tant que source de carbone et de donneurs d'électrons, le polluant est alors dégradé "accidentellement" (Fayeulle, 2013). Les champignons peuvent aussi métaboliser les HAP en plusieurs composés solubles dans l'eau, facilitant ainsi leur élimination ultérieure. Ainsi, les champignons oxydent les HAP via le système enzymatique cytochrome P450 pour former des phénols et des trans - dihydrodiols, qui peuvent être conjugués et excrétés de l'organisme (Belfadel et Chami, 2015).

Par ailleurs, plusieurs études ont rapporté une bonne sorption des contaminants sur des biomasses d'algues, champignons et bactéries. Ces contaminants peuvent être de différentes nature : métaux lourds, composés phénoliques, hydrocarbures aromatiques, ...etc (Mishra and Mukherji, 2012).

## 2. Evaluation de la capacité des microorganismes isolés à dégrader l'essence et le gasoil dans le sol

### 2.1. Taux matière organique (essence, gasoil)

Le suivi de la biodégradation de l'essence et du gasoil dans les sols traduit par le taux de matière organique est résumé dans la figure 4.



**Figure 3.** Taux de matière organique dans les sols étudiés

De manière générale, les taux de matière organique varient de 1 à 5 % voire 10 % dans les sols (CRALR, 2015).

Après analyse du taux de matière organique dans le sol non stérile et le sol stérile, nous avons obtenu un résultat de 3.9 et 3.6 % dans le sol non-stérile et le sol stérile respectivement. Ces résultats indiquent un taux de matière organique dans la moyenne (tableau 4) avec une différence non significative entre les deux sols. Ceci démontre que la stérilisation par autoclavage n'a pas d'effet sur la dégradation de la matière organique. Ce résultat concorde avec celui de Williams-Linera and Ewel, (1984).

**Tableau 4.** Normes d'interprétation de la matière organique (méthode de Anne ISO: 10693) (Masmoudi, 2012)

Sol	Taux de matière organique (%)
Très pauvre	Inférieur à 1
Pauvre	1 - 2
Moyen	2 - 4
Riche	Supérieur à 4

Nous avons remarqué que les taux de matière organique augmentent après addition des souches microbiennes (fig. 3). En effet, les cellules microbiennes représentent une fraction de la matière organique d'où l'élévation du taux de celle-ci dans le sol (Le Guillou, 2011).

En outre, nous avons constaté que le taux de matière organique n'a pas augmenté dans le sol témoin après ajout de l'essence (3.5 %) par rapport au sol stérile non pollué (3.6 %). Cependant, on remarque une élévation du taux de carbone après ajout des souches dans tous les sols pollués par l'essence (fig.3), cette élévation peut être due à cet ajout. Ces résultats peuvent être expliqués par :

- la volatilisation de l'essence au cours de la durée impartie de dégradation (Reese and Kimbrough, 1993).
- l'inadéquation de la méthode utilisée pour la détermination du taux de carbone et de matière organique pour ce type d'hydrocarbure. En effet, la méthode ANNE se base sur l'oxydation de la matière organique du sol principalement les débris végétaux, et colloïdes humiques, par le dichromate de potassium (LSV, 2007).
- Le piégeage physique du polluant par la matière organique (CRALR, 2015) ne permettant pas leur oxydation par le bichromate de potassium.

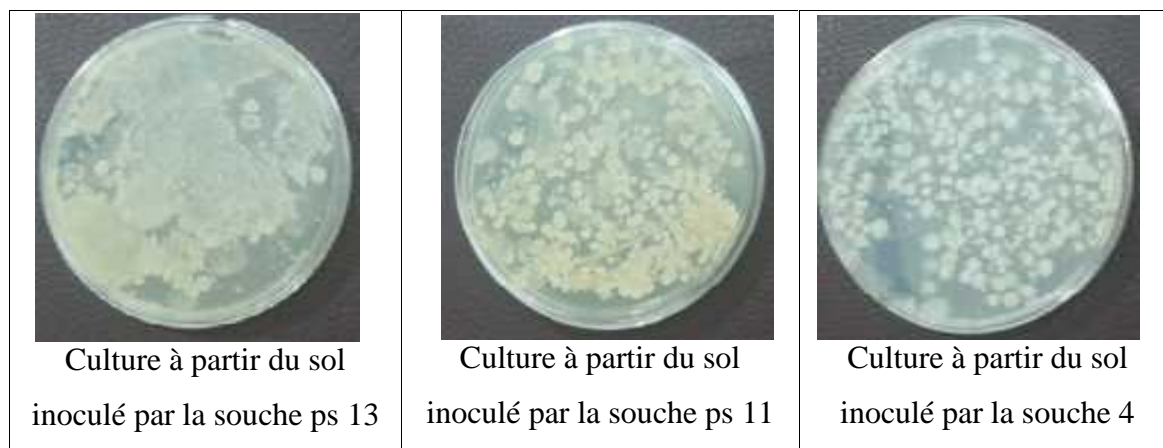
Concernant le sol pollué par le gasoil, nous avons noté une augmentation du taux de matière organique après ajout du gasoil. Cependant, dans les sols pollués par le gasoil et inoculés par la souche 4, souche 7, souche 8, souche 10, souche 11, souche ps 11, levure et consortium, on observe une diminution de ce taux (fig. 3), pouvant être expliqué par le fait que ces souches ont pu dégrader le gasoil dans ces différents échantillons de sol. Par contre, aucune dégradation n'a été observée chez les autres souches, ce qui peut être expliqué par :

- la mortalité des souches due à une concentration élevée en polluant devenant toxique pour ces dernières (Bidaud, 1998).
- les bactéries inoculées aux sols deviennent incapables de dégrader les polluants suite à une utilisation préférentielle d'autres composés organiques et surtout à une inaccessibilité (piégeage physique du polluant par la matière organique du sol (Amellal, 2003).
- le temps attribué à la dégradation non suffisant, en effet plusieurs études parlent d'un mois ou plus (Sharma *et al.* 2014).

## **2.2. Viabilité des souches inoculées**

Après ensemencement à partir des sols étudiés, nous avons remarqué des cultures de même aspect macroscopique avec prédominance des *Bacillus* et actinobactéries, dans

presque tous les cas (fig. 4). Ceci démontre une contamination des sols étudiés par des microorganismes présents sur les particules de poussières dans l'air provenant du sol (Bidaud, 1998). En effet, lors du travail, les sols étaient exposés à l'air libre, ce qui explique ces résultats. Malheureusement, ces résultats ne permettent pas d'apprécier la viabilité des souches inoculées.



**Figure 4.** Cultures obtenues après ensemencement à partir des sols inoculés

### 2.3. Semis des graines d'haricot

Après la période de dégradation attribuée, nous avons observé la germination des graines et la croissance de la plante (tableau 5).

Concernant le sol stérile-témoin et les sols stériles inoculés par les différentes souches isolées, nous avons observé une germination des graines dans le témoin sans avoir une croissance de la plante. Nous avons aussi noté une croissance de la plante dans les sols inoculés par les souches 2 (*Bacillus*), 8 (*Bacillus*), ps13 (*Pseudomonas*) et la souche 11 (*Pseudomonas*), où elle était plus marquée. En effet, différentes familles de bactéries, y compris les *Rhizobium*, ***Bacillus***, ***Pseudomonas*** et *Burkholderia* peuvent améliorer la croissance des légumineuses et des cultures dans des conditions de stress abiotique. Certaines souches fluorescentes de *Pseudomonas* spp. stimulent la nodulation des légumineuses (Hirt, 2012). Grimes et Mount (1987) cité par Lemanceau (1992) ont aussi montré qu'une souche de *Pseudomonas putida* augmente de façon significative la nodulation du haricot par *Rhizobium*. En outre, les études ont montré qu'une grande variété de microorganismes présents dans la rhizosphère produit des substances régulant la croissance et le développement des plantes comme les phytohormones, les antibiotiques,

les produits de décomposition et minéralisation de la matière organique, l'amélioration de la disponibilité des minéraux comme le phosphore, ...etc (Ortiz-Castro *et al.* 2009).

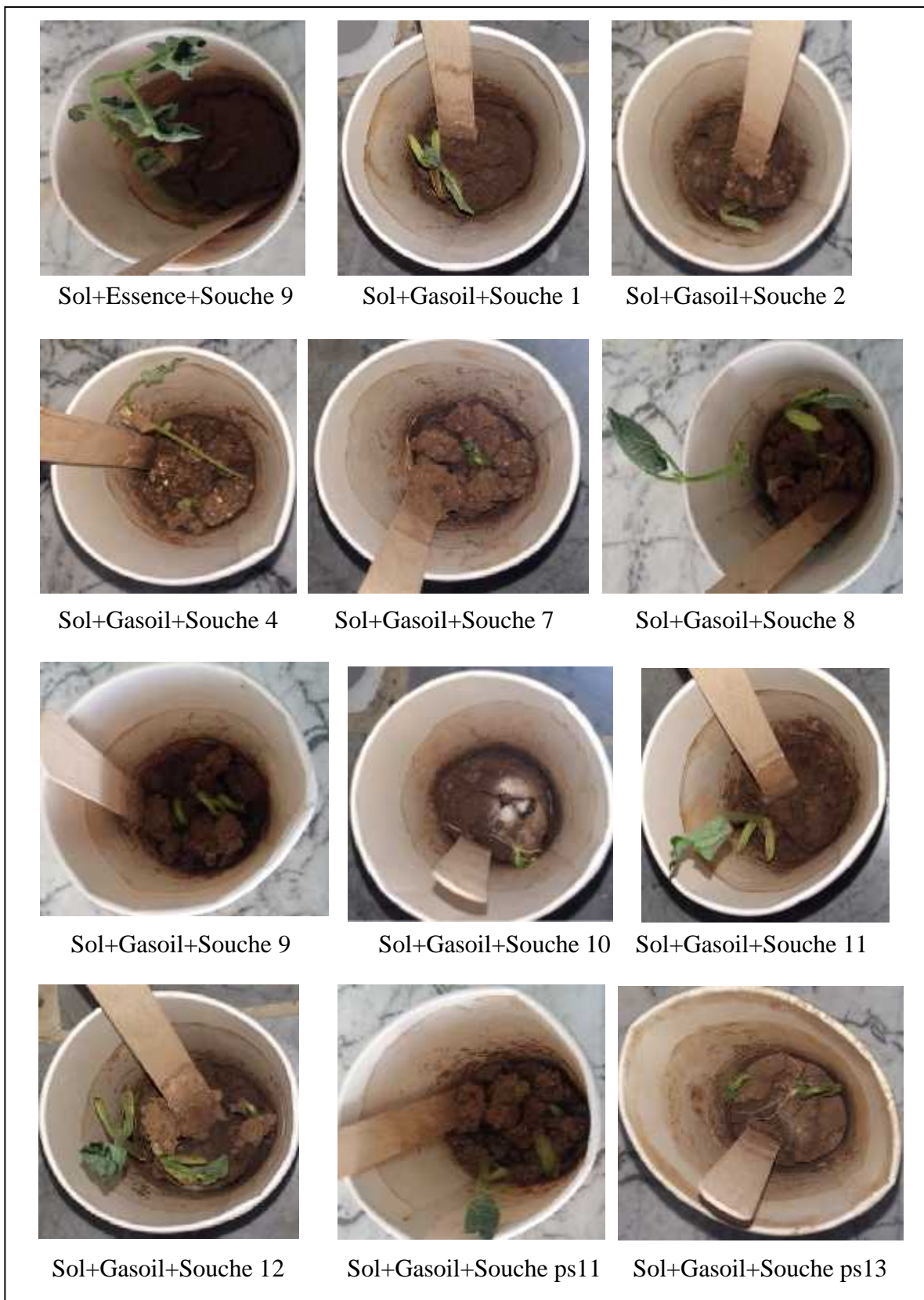
Nous avons aussi observé une germination des graines dans le sol témoin pollué par l'essence mais sans croissance de la plante. Alors qu'aucune germination n'a été noté dans les autres sols pollués à l'essence et inoculés par les microorganismes, sauf, pour les sols inoculés avec les souches 2, 7 et 9 où on remarque une germination et même apparition de la tige. Ces résultats peuvent témoigner de la toxicité de l'essence. En effet, en dépit de la volatilisation de ce produit, certains de ses composants se trouvant à l'état de trace particulièrement les métaux lourds ne se volatilisent pas et ne se dégradent pas et sont connus pour leur toxicité pour les êtres vivants et dans ce cas pour la plante du haricot (Rusin *et al.* 2015). La croissance de la plante dans les sols inoculés par les souches précitées peut s'expliquer par l'aptitude de certains microorganismes à accumuler et/ ou à adsorber les polluants rendant le milieu moins toxique (Mishra and Mukherji, 2012).

Par ailleurs, nous avons remarqué une très bonne croissance de la plante dans les sols pollués au gasoil et inoculés par les microorganismes mais aussi dans le sol témoin pollué par le même hydrocarbure, suggérant que le gasoil favorise la croissance de l'haricot.

Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que les plantes, de part leur nature sessile, sont souvent confrontées à différents stress abiotiques et biotiques de leur environnement immédiat. Leur survie dépend donc de leur capacité à adapter leur physiologie et notamment leur croissance aux effets de stress afin d'atténuer ou même supprimer ces derniers (Hirt, 2012).



**Tableau 5.** Germination et croissance des graines d'haricot dans les sols étudiés







Sol+Gasoil+Levure



Sol+Gasoil+Moisissure



Sol+Gasoil+Consortium

# Conclusion

## Conclusion

La contamination des sols par les hydrocarbures pétroliers est devenue un problème de grande envergure dans le monde entier. Ceci est dû à la dépendance des populations sur le pétrole comme source d'énergie, à l'industrialisation rapide et à l'indifférence vis-à-vis de la santé environnementale. Pour répondre à ce problème, les techniques de bioremédiation ont reçu une grande attention en raison de leur innocuité.

Cette étude nous a permis d'apprécier la dégradation de l'essence et du gasoil par des souches bactériennes et fongiques, isolées à partir de sols pollués par ces deux types d'hydrocarbures, en cultures pures et en consortium. Le taux de dégradation des hydrocarbures en étude est évalué par l'estimation du taux de matière organique du sol. De plus, le haricot *Phaseolus vulgaris*, une plante sensible bioindicatrice de la pollution a été utilisée pour apprécier l'état du sol.

Treize souches microbiennes à savoir onze bactéries du genre *Bacillus*, *Pseudomonas* et actinobactérie ainsi que deux champignons; une levure et une moisissure du genre *Rhizopus* ont été isolées. Certaines de ces souches ont démontré l'aptitude à dégrader les deux ou l'un des deux hydrocarbures.

Par ailleurs, l'essence s'est avérée toxique pour la plante bioindicatrice utilisée alors que le gasoil favoriserait sa croissance.

Ces résultats constituent une ébauche dans l'identification des souches microbiennes capables de dégrader l'essence et le gasoil.

Pour compléter ce travail, une identification des espèces isolées ainsi que la caractérisation de leur métabolisme doivent être réalisées. L'utilisation d'un substrat de croissance connu et des techniques plus performantes de dosage des hydrocarbures s'avèrent primordiales dans la détermination des différents paramètres influençant la biodégradation.

# **Références Bibliographiques**

## Références bibliographiques

- Adel N., Chetouane R. et Ouidah K. 2016. Biodégradation des hydrocarbures. Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie.
- Agarry S., Latinwo GK. 2015. Biodegradation of diesel oil in soil and its enhancement by application of bioventing and amendment with brewery waste effluents as biostimulation-bioaugmentation. *Journal of Ecological Engineering*. 16(2): 82-91.
- Amellal N. 2003. Devenir des hydrocarbures ployaromatiques dans les sols: impact des paramètres physico-chimiques et microbiologiques. Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Tunisie.
- Bécaert V. 1999. Production et caractérisation d'un consortium microbien pour le traitement de sol contaminé aux produits de préservation du bois. Maitrise en Sciences Appliquées. Ecole polytechnique de Montréal, Canada.
- Belfedal C. et Chami I. 2015. Criblage et identification de souches microbiennes isolées à partir d'un sol pollué capables de dégrader les hydrocarbures. Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie.
- Bidaud C. 1998. Biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Approche microbiologique et application au traitement d'un sol pollué. Thèse de Doctorat. Ecole nationale supérieure des mines de Saint-Etienne, France.
- Biokar Diagnostics. 2003. Gélose King B. [www.Biokar-Diagnostics.Fr](http://www.Biokar-Diagnostics.Fr)
- Biokar Diagnostics. 2005. Gélose nutritive. [www.Biokar-Diagnostics.Fr](http://www.Biokar-Diagnostics.Fr)
- Bruand A., Hartmann C. and Lesturgez G. 2005. Physical properties of tropical sandy soils: A large range of behaviours. Management of Tropical Sandy Soils for Sustainable Agriculture. A holistic approach for sustainable development of problem soils in the tropics. Khon Kaen, Thailand.
- CEAEQ (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec). 2014. Détermination du carbone organique total dans les solides : dosage par titrage. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, Canada. 9 p.
- Chedly A. 2007. Biorémediation/ Phytoremediation. Institut supérieur de l'éducation et de la formation continue. Université de Tunis, Tunisie.

CRALR (Chambre Régionale d'Agriculture du Languedoc-Roussillon). 2015. Les matières organiques du sol. Chapitre dans : Les produits organiques utilisables en agriculture en Languedoc-Roussillon. Tome 1. Agriculture et Territoires. Chambre d'agriculture Languedoc-Roussillon.

Fayeulle A. 2013. Etudes des mécanismes intervenant dans la biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques par les champignons saprotrophes telluriques en vue d'application en bioremédiation fongique des sols pollués. Thèse de Doctorat. Université du littoral cote d'opale, France.

Gaudu F. 2014. Bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures. Synthèse bibliographique. Université Rennes 1, France.

Guergouri I. 2010. Caractérisation des bactéries isolées des sols contaminés par les hydrocarbures (zone de Skikda) et productrices des biosurfactants. Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine, Algérie.

Guillaume PY. 2004. [www2.Ac-lyon.fr](http://www2.Ac-lyon.fr).

Hirt H. 2012. Des microbes bénéfiques peuvent aider des plantes à acquérir une tolérance aux stress environnementaux. Académie d'Agriculture de France. Evry, France

Kothari V., Panchal M., Srivastava N. 2013. Microbial degradation of hydrocarbons.

Lakshmi PJ. 2013. Biodegradation of Diesel by *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. 2(4): 1-24.

Lecellier A. 2013. Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Thèse de Doctorat. Ecole doctorale sciences technologie santé. Reims, France

Le Guillou C. 2011. Effets combinés de la qualité des résidus de culture et de la disponibilité en azote minéral sur la stabilisation de la structure du sol par les microorganismes. Thèse de Doctorat. Université européenne de Bretagne, France.

Lemanceau P. 1992. Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents. *Agronomie, EDP Sciences*, 12(6): 413-437.

Lima JS., Fernandes EB. and Fawcett WN. 2000. *Mangifera indica* and *Phaseolus vulgaris* in the bioindication of air pollution in Bahia, Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety. Environmental Research*, Section B. 46: 275 – 278

LSV. 2007. Manuel de laboratoire LSV. Le carbone organique (méthode de Anne simplifiée).

Malik ZA. and Ahmed S. 2012. Degradation of petroleum hydrocarbons by oil field isolated bacterial consortium. *African Journal of Biotechnology*. 11(3): 650 – 658

Masmoudi A. 2012. Etude de certains paramètres de durabilité des systèmes de production céréaliculture-élevage dans le contexte de l'intégration des techniques de l'agriculture de conservation. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas sétif, Algérie

Mishra PK. and Mukherji S. 2012. Biosorption of diesel and lubricating oil on algal biomass. *Biotechnology*. 2: 301–310.

Moussi A. 2014. La cellule bactérienne. Matière en microbiologie générale. Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie.

Ortíz-Castro R., Contreras-Cornejo HA., Macías-Rodríguez L. and López-Bucio J. 2009. The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signaling and Behavior*. 4(8): 701-712.

Reese E. and Kimbrough RD. 1993. Acute toxicity of gasoline and some additives. *Environmental Health Perspectives*. 101(6): 115 – 131.

Rosa Franco MH., Teixeira Lemos V., Cabral França A., Carvalho Schiavon N., Gomes Albuquerque M.T., de Oliveira Alecrim A., D'Antonino L. 2016. Physiological and morphological characteristics of *Phaseolus vulgaris* L. grown in soil with picloram residues. *Trop. Goiânia*. 46(3): 276-283.

Roudier P. 2005. Techniques de réhabilitation des sites et sols pollués-  
Fiches de synthèse. Techniques de l'ingénieur.

Rusin M., Gospodarek J. and Nadgórska-Socha A. 2015. The effect of petroleum-derived substances on the growth and chemical composition of *Vicia faba* L. *Polish Journal of Environmental Studies*. 24(5): 2157-2166.

Sharma A., Kumar P., Rehman MB. 2014. Biodegradation of diesel hydrocarbon in soil by bioaugmentation of *Pseudomonas aeruginosa*: A laboratory scale study. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*. 2(4): 202-212.

Solano-Serena F., Marchal R. et J.P. Vandecasteele. 2001. Biodégradabilité de l'essence dans l'environnement : de l'évaluation globale au cas des hydrocarbures récalcitrants. *Oil & Gas Science and Technology*. 56: 479-498.

Vanishree M., Thatheyus AJ. and Ramya D. 2014. Biodegradation of petrol using the fungus *penicillium* sp. *Science international*. 2: 26-31.

Williams-Linera G. and Ewel JJ. 1984. Effect of autoclave sterilization of a tropical andept on seed germination and seedling growth. *Plant and Soil*. 82: 263-268

**Résumé**

Cette étude nous a permis d'apprécier la dégradation de l'essence et du gasoil par des souches bactériennes et fongiques, isolées à partir de sols pollués par ces deux types d'hydrocarbures, en cultures pures et en consortium.

Le taux de dégradation des hydrocarbures en étude est évalué par l'estimation du taux de matière organique du sol. De plus, le haricot *Phasoelus vulgaris*, une plante sensible bioindicatrice de la pollution a été utilisée pour apprécier l'état du sol.

Treize souches microbiennes à savoir onze bactéries des genres *Bacillus*, *Pseudomonas* et actinobactérie ainsi que deux champignons; une levure et une moisissure du genre *Rhizopus* ont été isolées. Aucune estimation du taux de matière organique n'a pu être faite dans les sols pollués par l'essence cependant nous avons noté la toxicité de ces sols sur la plante bioindicatrice utilisée démontrant qu'il n'y a pas eu de biodégradation. L'exception a été observée pour trois sols inoculés par deux souches de *Bacillus* et une souche d'Actinobactérie. Concernant le gasoil on a noté une diminution du taux de la matière organique dans tous les sols pollués et inoculés avec les souches microbiennes à savoir trois souches d'actinobactéries, deux souches de *Pseudomonas*, une souche de *Bacillus*, une levure et le consortium. Par ailleurs, on a remarqué une bonne croissance de la plante dans tous les sols pollués par le gasoil suggérant que celui-ci favorisera sa croissance.

Ces résultats constituent une ébauche dans l'identification de souches microbiennes capables de dégrader l'essence et le gasoil.

**Mots clés:** Hydrocarbures, essence, gasoil, biodégradation, bioaugmentation.

**Abstract**

This study allowed us to appreciate the degradation of gasoline and diesel by bacterial and fungal strains isolated from soils polluted by these two types of hydrocarbons, in pure cultures and in consortiums.

The rate of hydrocarbon degradation is evaluated by estimating the organic matter content of the soil. In addition, *Phasoelus vulgaris*, a sensitive bioindicator plant of pollution was used to assess soil condition.

Thirteen microbial strains, namely eleven bacteria of the genera *Bacillus*, *Pseudomonas* and actinobacterium, as well as two fungi; a yeast and a mold of the *Rhizopus* genus were isolated. No estimate of the organic matter content could be made in soils polluted by gasoline, however we noted the toxicity of these soils on the plant, demonstrating that there was no biodegradation. The exception was noted for three soils inoculated with two strains of *Bacillus* and one strain of Actinobacteria. Regarding diesel, a decrease in organic matter rate was observed in all soils polluted and inoculated with microbial strains, namely three strains of actinobacteria, two strains of *Pseudomonas*, one strain of *Bacillus*, one yeast and the consortium. On the other hand, a good growth of the plant was observed in all the soil polluted by diesel suggesting that it promotes its growth.

These results are a first step in the identification of microbial strains capable of degrading gasoline and gas oil.

**Key words:** Hydrocarbons, gasoline, diesel, biodegradation, bioaugmentation.

**المخلص**

سمحت لنا هذه الدراسة تقييم هذين النوعين من المادة العضوية بكتيريا وفطر عن طريق مزج جميع السلالات. تم تقييم مفاصولياءها ميكروبية بينها المواد العضوية في التربة الملوثة البنزين يحدث تحلل بيولوجي لمواد الهيدروكربونية عينات من فاصولياء جيد عينات من فاصولياء بالديزل. تحليل المواد الهيدروكربونية عن طريق تقدير بيولوجي لتقييم حالة التربة. والتئين من يلم يتم تسجيل فاصولياء مما يدل على أنه تأثيرات فاصولياء بالديزل. عينات التربة الملوثة بالديزل. يل البنزين والديزل. المتحصل عليها بادرة في تحديد السلالات الميكروبية.

**الكلمات المفتاحية:** البنزين والديزل، البيولوجي.