



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère De l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DEPARTEMENT : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**FILIERE : BIOLOGIE**

**OPTION: MICROBIOLOGIE APPLIQUEE**

**Thème :**

**Contribution à la caractérisation  
microbiologique des eaux d'un site  
RAMSAR de l'Est Algérien, lac  
Oubeira**

**Présenté par :**

**BAKHOUCHE Ahlem.**

**FARTAS Hafida.**

**Jury de soutenance :**

Présidente :	LARBA Rabah	M.C.B	Université Abbès Laghrou khenchela
Directrice :	BENREDJEM Lamia	M.A.A	Université Abbès Laghrou khenchela
Examinatrice :	SEBIHI Fatima-Zahra	M.C.B	Université Abbès Laghrou khenchela

**Année universitaire: Juin 2018**

**Le travail a été réalisé au niveau du : laboratoire pédagogique de Microbiologie, Université Abbess  
Laghrou-Khenchela**

## ***Remerciements***

*Nous remercions premièrement ALLAH unique le Tout Puissant de nous avoir donné patience, santé et volonté tout au long de nos études.*

*Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude notre encadreur Mademoiselle BENREDJEM Lamia qui a accepté de nous encadrer et de diriger ce travail. Nous la remercions pour sa patience, son aide très précieuse et ses corrections sérieuses.*

*Nous remercions également Mr LARBA Rabah d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.*

*Un grand merci à Mme SEBIHI Fatima-Zahra qui nous a fait l'honneur de juger notre travail.*

*Nos remerciements vont aussi à tous nos enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abbès Laghrour Khenchela qui nous ont soutenus et nous ont aidé dans ce travail*

*Un grand merci à toutes les personnes qui ont bien voulu répondre à nos questions particulièrement au personnel des laboratoires pédagogiques de la Faculté des SNV.*

*Et enfin nous tenons à remercier toutes les personnes qui de près ou du loin ont contribué à la réussite de ce travail.*

*A toutes et à tous MERCI.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à mes parents, qui n'ont jamais cessé de  
m'encourager pour mes études.*

*A mes frères, Mes sœurs : Nadia ,Saadia ,Nora ,Aïcha  
,Akila ,Hadjira et fairouze*

*Toute ma famille surtout yaakoub*

*À Mademoiselle Benrdjam Lamia*

*Mes belles amies : Lobna, Latifa, Amina, Hassiba et Souria*

*Mes collègues de la promotion Microbiologie Appliquée*

*HAFIDA*

*Je dédie ce travail à mes parents.*

*A mes frères, ma sœur mouna.*

*Toute ma famille.*

*Mes belles amies : nora ,selma , lobna ,ahlam et sabah.*

*A tous mes camarades de promotion.*

*AHEM*

# *Résumé*

Aujourd'hui la pollution représente un important problème environnemental. Plusieurs bactéries ont la capacité de dégrader plusieurs types de polluants dans différents milieux (sol, eau et l'air) sont utilisées en bioremédiation.

Notre étude a porté sur la recherche et l'identification des bactéries appartenant à deux genres *Pseudomonas* et *Bacillus*, utilisées en tant qu'agents biologiques efficaces de dépollution, à partir d'un site RAMSAR de l'Est Algérien, lac Oubeira. L'identification préliminaire, de ces genres, basés sur l'étude macroscopique, microscopique ainsi que, les tests biochimiques.

Les résultats de l'analyse microbiologique de ces genres montre l'identification de quatre souche tel que : *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Bacillus anthracis*.

**mots clés :** pollution , lac Oubeira ,biorémediation, *Pseudomonas*, *Bacillus* .

Today pollution is an important environmental problem. Several bacteria have the ability to degrade several types of pollutants in different media (soil, water and air) are used in bioremediation.

Our study focused on research and identification of bacteria belonging to two genera *Pseudomonas* and *Bacillus*, used as effective biological agents for depollution, from a RAMSAR site in eastern Algeria, Lake Oubeira. Preliminary identification of these genera, based on macroscopic, microscopic study as well as, biochemical tests.

The results of the microbiological analysis of these genera show the identification of four strains such as: *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus anthracis*.

**Key words:** pollution, Oubeira lake, bioremediation, *Pseudomonas*, *Bacillus*.

في يومنا هذا يعتبر التلوث مشكلا بيئيا هاما ,تستخدم العديد من البكتيريا القدرة على تحلل عدة أنواع من الملوثات في أوساط مختلفة (التربة والماء والهواء) في المعالجة البيولوجية.

ركزت دراستنا في البحث والتعرف على البكتيريا التي تنتمي إلى جنسين *Pseudomonas* و *Bacillus* ، وتستخدم كعوامل بيولوجية فعالة لإزالة التلوث ، من موقع RAMSAR في شرق الجزائر ، بحيرة الابيرة. التعرف المبدئي على هذه الأجناس ، استناداً على دراسة مجهرية ، بالإضافة إلى الاختبارات البيوكيميائية.

تظهر نتائج التحليل الميكروبيولوجي لهذه الأجناس تحديد أربعة سلالات مثل: الزائفة الزنجارية ، العصوية الرقيقة ، العصوية الخيطية و *Bacillus anthracis*.

**الكلمات المفتاحية:** التلوث,بحيرة أوبيرا ، بيولوجي ، *Pseudomonas* ، *Bacillus* .

## **Table des matières**

<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Liste des abréviations.....	I
Listedes Photographes et figure.....	II
Liste des tableaux.....	III
Introduction.....	01
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b>	
1. Notion de zone humide.....	03
1.1. Définition des zones humides d'après la convention de Ramsar.....	03
1.2. Définition des zones humides d'après le code de l'environnement...	03
2. Convention Ramsar.....	04
3. Les zones humides côtières Algériennes d'importance internationale	04
3.1. Réserve intégrale du lac Oubeïra (El Tarf).....	05
3.2Réserve intégrale du lac Tonga (El Tarf).....	05
3.3. Lac des oiseaux (El Tarf).....	05
3.4. Complexe de zones humides de la plaine de Guerbes-Sanhadja .....	05
3.5. Marais de la Macta (Mascara, Oran, Mostaganem).....	05
3.6. Réserve naturelle du lac de Beni Belaid (Jijel) .....	06
3.7. Marais de la Mekhada (El Taref).....	06
3.8. Réserve naturelle du lac de Reghaïa (Alger).....	06
3.9. La lagune mellah et le lac bleu (El Taref).....	07
4. L'importance de l'eau.....	07
5. La pollution.....	08
5.1. Notion de pollution.....	08
5.2. Classification des pollutions.....	08
5.2.1. Matière organique ou minérale.....	08
5.2.2. Matière soluble ou insoluble.....	09
5.2.3. Matières toxiques ou non.....	09
5.2.4. Matière inerte ou vivante.....	09

<b>5.3. Différents types de pollution.....</b>	<b>10</b>
<b>5.3.1. Pollution domestique.....</b>	<b>10</b>
<b>5.3.2. Pollution agricole .....</b>	<b>10</b>
<b>5.3.3. Pollution industrielle.....</b>	<b>10</b>
<b>5.4. Lanaturede polluants et leur toxicité.....</b>	<b>11</b>
<b>5.4.1. Pollution physique.....</b>	<b>11</b>
<b>5.4.2. Pollution mécanique.....</b>	<b>11</b>
<b>5.4.3. Pollution thermique.....</b>	<b>11</b>
<b>5.4.4. Pollution radioactive.....</b>	<b>11</b>
<b>5.5. Pollution microbiologique.....</b>	<b>12</b>
<b>5.5.1. Les virus.....</b>	<b>12</b>
<b>5.5.2. Les bactéries.....</b>	<b>13</b>
<b>5.5.3. Les protozoaires.....</b>	<b>13</b>
<b>5.6. Polluants chimiques.....</b>	<b>13</b>
<b>5.6.1. Nitrate.....</b>	<b>13</b>
<b>5.6.2. Phosphate.....</b>	<b>14</b>
<b>5.6.3. Sulfates et chlorures.....</b>	<b>14</b>
<b>5.7. Eutrophisation des eaux douces Eutrophisation des eaux douces</b>	<b>14</b>
<b>5.8. Impact de la pollution.....</b>	<b>15</b>
<b>5.8.1. Sur le milieu naturel.....</b>	<b>15</b>
<b>5.8.2. Sur l'économie.....</b>	<b>16</b>
<b>5.8.3. Sur la santé.....</b>	<b>16</b>
<b>6. La bioremédiation.....</b>	<b>16</b>
<b>6.1. Le principe.....</b>	<b>17</b>
<b>6.2. Conditions de choix d'un procédé de bioremédiation.....</b>	<b>17</b>
<b>6.3. Facteurs influençant la bioremédiation.....</b>	<b>17</b>
<b>6.4. les techniques de l'édition.....</b>	<b>18</b>
<b>6.4.1. La bioremédiation <i>in-situ</i>.....</b>	<b>18</b>
<b>6.4.2. La bioremédiation sur ou hors-site.....</b>	<b>20</b>
<b>6.5. Bioremédiation par les microorganismes.....</b>	<b>21</b>

6.5.1. Les microorganismes utilisés en bioremédiation.....	22
6.5.2. Les bactéries utilisées en bioremédiation.....	22

## **Chapitre II: Matériels et méthodes**

1. Présentation du milieu d'étude.....	25
1.1. Localisation générale.....	25
1.2. Caractéristiques écologiques .....	28
1.2.1. Flore.....	25
1.2.2. Faune.....	26
1.3. Intérêts du lac.....	26
2. Echantillonnage .....	26
3. Isolement des souches bactériennes.....	26
4. Identification des souches bactériennes.....	27
4.1. Examen macroscopique.....	27
4.2. Examen microscopique.....	27
4.3. Identification biochimique.....	28
4.3.1. Recherche de la catalase.....	28
4.3.2. Test de l'oxydase .....	28
4.3.3. Test Mannitol Mobilité .....	29
4.3.4. Test ONPG .....	29
4.3.5. Recherche de nitrate réductase .....	30
4.3.6. Test au rouge de méthyle (RM).....	30
4.3.7. Le test de Voges-Prauskauer (VP).....	31
4.3.8. Test de TSI .....	31
4.3.9. Utilisation du citrate comme source de carbone .....	32
4.3.10. Recherche des pigments spécifiques de <i>Pseudomonas</i> .....	32

## **Chapitre III : Résultats et Discussion**

1. Résultats.....	34
1.1. Aspects macroscopique et microscopique.....	34
1.2. Identification biochimique.....	36
2. Discussion.....	40

<b>Conclusion.....</b>	<b>42</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>43</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	

**Liste des abréviations**

°C : degré Celsius

**fig.** : Figure

**H** : heure

**H<sub>2</sub>S** : sulfure d'hydrogène

**g** : gramme

**m** : mètre

**Km** : kilomètre

**mg** : milligramme

**ml** : millilitre

**N** : Azote

**Na<sup>+</sup>** : sodium

**NH<sub>4</sub><sup>+</sup>** : ammonium

**NO<sub>3</sub><sup>-</sup>** : nitrate

**NRI** : nitrate réductase I

**NRII** : nitrate réductase II

**ONPG** :  $\beta$ -galactosidase

**O<sub>2</sub>** : Oxygène

**P** : Phosphore

**pH** : potentiel hydrogène

**PO<sub>4</sub>** : phosphate

**RM** : rouge de méthyle

**TSI** : Triple Iron. Agar

**T°** : température

**UV** : ultraviolet

**VF** : viande de foie

**VPI** : Voges-Prauskauer

**VPII** : Voges-Prauskauer

**%** : pourcentage

**Liste des photographies et de figure**

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Photographie 01</b>	l'aspect macroscopique des colonies sur milieu cètrimide	<b>34</b>
<b>Photographie 02</b>	l'aspect macroscopique des colonies sur milieu gélose à l'amidon recouvert par Lugol	<b>34</b>
<b>Photographie 03</b>	aspect macroscopique des colonies sur milieu gélose a l'amidon	<b>35</b>
<b>Photographie 04</b>	aspect microscopique des spores de <i>Bacillus</i> après coloration au vert de Malachite	<b>35</b>
<b>Photographie 05</b>	Résultats de mini galerie classique de la souche <i>Pseudomonas</i>	<b>38</b>
<b>Photographie 06</b>	Résultats d'isolement sur milieu King A et King B	<b>38</b>
<b>Photographie 07</b>	Résultats de la galerie classique de la souche 1 du genre <i>Bacillus</i>	<b>39</b>
<b>Photographie 08</b>	Résultats de la galerie classique de la souche 2 du genre <i>Bacillus</i>	<b>40</b>
<b>Photographie 09</b>	Résultats de la galerie classique de la souche 3 du genre <i>Bacillus</i>	<b>40</b>
<b>Figure 01</b>	Localisations du lac Oubeïra	<b>25</b>

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>Tableau I.</b>	Résultats des observations macroscopiques et coloration de Gram	<b>36</b>
<b>Tableau II.</b>	Résultats des tests biochimiques des différentes espèces isolées	<b>37</b>

# *Introduction*

La pollution en Algérie et dans le monde entier a fait l'objet de nombreuses études et publications. Les pays industrialisés ainsi que les pays en voie de développement sont touchés par les différentes formes de pollution d'origine industrielle, automobile, agricole et domestique. La région du Nord-Est Algérien est considérée comme zone humide en raison de la présence d'un certain nombre de lacs à savoir : les Lacs "Fezara" (W. Annaba), "Oubeïra", "Tonga", "El-Mellah" et "des Oiseaux" (W. El-Tarf) (Amri *et al.*, 2008).

Le lac Oubeira est un plan d'eau douce, peu profond, d'une superficie de 21,73 Km<sup>2</sup>, situé à l'extrême Nord-Est Algérien. Il est endoréique et classé site Ramsar depuis 1983, faisant partie du parc national d'El Kala. Il reçoit des rejets d'eaux usées de petites localités et subit des prélèvements destinés aux activités agricoles, et aussi influencé par les apports d'oued Messida et même Oued El Kebir lors des crues et par les apports d'Oued Demet El Rihana au Nord (Alayat, 1991).

Les micro-organismes et les communautés qui occupent les milieux aquatiques se comportent en «observatoires permanents» de l'environnement dont ils amplifient, cumulent ou mémorisent les perturbations. Beaucoup de micro-organisme ont la capacité de survivre dans des eaux polluées, cette propriété les rend comme des bioindicateurs de la pollution des eaux (Amri *et al.*, 2008).

Les technologies de traitement biologique des eaux polluées sont en plein essor. Le développement de nouveaux procédés impliquant des organismes vivants représente une solution alternative écologique, mais également moins couteuse que les procédés chimiques ou thermiques actuellement utilisés. De plus ces méthodes, appelées bio-dépollution ou biorémediation, sont particulièrement adaptées au traitement de volumes de eaux importants et à l'assainissement *in situ*. La biorémediation est basée sur les capacités épuratrices des systèmes biologiques présents dans la nature : microorganismes (bactéries, champignons, algues) ou organismes supérieurs (végétaux). Dans la nature, se développent spontanément des processus de dégradation ou de transformation de composés organiques ou minéraux. Ces organismes vivants, en transformant les déchets, jouent un rôle essentiel dans les cycles biochimiques vitaux. Mais ces réactions se produisent avec des cinétiques trop lentes pour avoir une application. Les procédés de biorémediation visent donc, par intervention de l'Homme, à augmenter les capacités de dégradation de ces microorganismes de l'eau pour accélérer les phénomènes naturels, afin de ramener les quantités de polluants extractibles en dessous des normes établies dans une durée limitant les risques de dispersion ou de contamination plus larges (Losi *et al* 1994).

Le présent travail contribue à l'identification microbiologique des bactéries utilisées en tant qu'agents biologiques efficaces de dépollution des eaux contaminées.

L'objectif de notre travail est donc l'isolement et l'identification des bactéries appartenant au genre *Pseudomonas* et *Bacillus* dans l'eau de lac Oubeira, d'un site RAMSAR de l'est Algérien.

Pour atteindre cet objectif, le travail sera subdivisé en trois chapitres :

- dans la première partie nous présenterons la synthèse bibliographique, qui comprend les zones humides ; la pollution des eaux et la biorémediation ;
- dans la deuxième partie nous présenterons le matériel utilisé et nous exposerons les résultats obtenus lors de la recherche.

# *Chapitre I*

## *Synthèse bibliographique*

**1. Notion de zone humide**

Les zones humides sont généralement définies comme des espaces de transition entre terre et eau, elles constituent en effet une catégorie particulière de systèmes écologiques ou écosystèmes qui se différencient par leurs caractéristiques et leurs propriétés des deux autres grandes catégories représentées par les écosystèmes terrestres et les écosystèmes aquatiques. (Barnaud & Fustec, 2007).

Cette situation d'interface entre la terre et l'eau se rencontre dans de nombreuses situations : bords de lacs, d'étangs, de ruisseaux, rivières, fleuves, deltas ou baies, etc. Le terme générique « zones humides » désigne donc un ensemble de milieux naturels extrêmement différents mais possédant tous le point commun d'avoir un fonctionnement intimement lié à l'eau.

En fonction du référentiel considéré (Ramsar, loi sur l'eau, ...), le terme « zones humides » ne désigne pas exactement les mêmes milieux naturels, certaines définitions étant plus larges que d'autres (Allout, 2013).

**1.1. Définition des zones humides d'après la convention de Ramsar**

D'après cette convention internationale ratifiée par l'Etat Français en 1986, les zones humides sont «des étendues de marais, de fagnes, de tourbières ou d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur à marée basse n'excède pas six mètres».

Elle prend donc en compte des milieux tels que les récifs coralliens ou les herbiers marins ainsi que les cours d'eau et milieux souterrains, qui sont en revanche exclus de la définition établie par le code de l'environnement (Allout, 2013).

**1.2. Définition des zones humides d'après le code de l'environnement**

Selon le code de l'environnement, les zones humides sont des « terrains, exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre de façon permanente ou temporaire; la végétation, quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année ». Les zones humides ou milieux humides sont des écosystèmes particuliers : ce sont des intermédiaires entre les écosystèmes terrestres et les

écosystèmes aquatiques. Il existe une grande variété de milieux humides sur la planète. L'eau qui les alimente peut être douce, saumâtre ou salée. Les conditions climatiques et géologiques, le pH et les conditions d'hydro-morphologie sont très variables (Barnaud & Fustec, 2007).

Leur sol peut être submergé en permanence ou seulement lorsqu'il subit des battements de nappes ou les cycles de marée. Les zones humides sont plus ou moins reliées entre elles et avec les autres écosystèmes aquatiques (Barnaud & Fustec, 2007).

## **2. Convention Ramsar**

La convention relative aux zones humides d'importance internationale particulièrement comme habitats des oiseaux d'eau, adoptée le 2 février 1971 à Ramsar (Iran), est entrée en vigueur le 21 décembre 1975 (UICN, 2009).

La convention de Ramsar sur les zones humides a été conçue comme un moyen d'attirer l'attention internationale sur le rythme et la gravité de la disparition des habitats des zones humides, disparition due, en partie, à la méconnaissance de leurs importantes fonctions et valeurs, et des biens et services précieux qu'elles fournissent. Les gouvernements qui adhèrent à la Convention expriment ainsi leur volonté de contribuer activement à inverser la tendance historique à la perte et à la dégradation des zones humides (UICN, 2009).

La Convention sur les zones humides sert de cadre à l'action nationale et à la coopération internationale pour la conservation et l'utilisation rationnelle des zones humides et de leurs ressources à l'échelle régionale, voire mondiale (MEDE, 2012).

En janvier 2013, 163 pays étaient Parties contractantes à la Convention et plus de 2060 zones humides, couvrant plus de 197 millions d'hectares figuraient sur la liste de Ramsar des zones humides d'importance internationale (RAMSAR, 2013).

## **3. Les zones humides côtières Algériennes d'importance internationale**

Selon l'Atlas des sites Algériens, l'Algérie compte 50 zones humides d'importance internationale inscrites sur la liste RAMSAR, dont neuf (09) sont classées comme étant des zones humides côtières (Anonyme, 2004).

**3.1. Réserve intégrale du lac Oubeïra (El Tarf)**

C'est un lac d'eau douce d'une forme subcirculaire d'une superficie de 2200 ha, ayant une profondeur maximale de 04 m, et se trouve à 04 km de la mer à vol d'oiseau. Abri d'une flore aquatique intéressante, il est l'unique station de la châtaigne d'eau (*Trapa natans*) et du nénuphar jaune (*Nuphar luteum*). C'est également le foyer d'une importante pêche artisanale de carpes chinoises introduites (Gana, 2013).

**3.2. Réserve intégrale du lac Tonga (El Tarf)**

Etang et marais d'eau douce d'une superficie de 2700 ha, communiquant avec la mer par un chenal artificiel. Et se caractérise par la présence d'îlots flottants colonisés par des saoules, de grandes plages d'eau libre occupées partiellement par le nénuphar blanc (*Nuphar alba*) et une importante couverture végétale en forme de mosaïque (Gana, 2013).

**3.3. Lac des oiseaux (El Tarf)**

C'est un lac d'eau douce d'une superficie de 120 ha en période hivernale et 70 ha en période sèche. C'est un site de nidification pour de nombreuses espèces rares comme l'Erismature à tête blanche (*Oxyura leucocephala*), le Fuligule Nyroca (*Aythya nyroca*) et Talève sultane (*Porphyrio porphyrio*) (Gana, 2013).

**3.4. Complexe de zones humides de la plaine de Guerbes-Sanhadja (Skikda)**

C'est une grande plaine littorale d'une superficie de 42100 ha bordée à l'Ouest par les collines côtières de Skikda et à l'Est par le massif forestier côtier de Chetaibi. La plaine de Guerbes est le site de nidification de deux espèces rares ; l'Erismature à tête blanche et le Fuligule Nyroca. 234 espèces végétales sont recensées au niveau de ce complexe (GANA, 2013).

**3.5. Marais de la Macta (Mascara, Oran, Mostaganem)**

La plaine de la Macta est une dépression triangulaire séparée du Golfe d'Arzew par un cordon dunaire bordée au Nord-Ouest par le massif de la Sebkhah d'Arzew et au Nord-Est par la loretombée sud du plateau de Mostaganem, la plaine de Sig et de l'Habra qui la prolonge s'élargit fortement dans le sens est-Ouest et atteint au sud les contreforts de l'Atlas Tellien, les monts de Ouled Ali et des Béni chougane à Mohammedia. Ces plaines reçoivent toutes une série d'Oueds dont les plus importants sont d'Ouest en Est l'Oued Sig, l'Oued Habra et

l'Oued Tinn. La plaine de la Macta comporte à la fois des plans d'eau, des marais et des steppes plus ou moins humides situées en général en dessous de la côte des 9m (GANA, 2013).

### **3.6. Réserve naturelle du lac de Beni Belaid (Jijel)**

Le site est constitué d'un plan d'eau libre d'une superficie de 10 ha. Il est entouré d'une végétation lacustre composée de tamarix, d'aulne glutineux, de *Fraxinus angustifolia*, de phragmites et de typha, d'une peupleraie (*Populus alba*) âgée. Au sein de laquelle coulent de nombreux ruisseaux avec un sous-bois constitué de *Nerium oleander* et de *Rubus ulmifolius*, d'un cordon dunaire séparant le lac de la mer, recouvert d'une végétation inféodée à l'écosystème dunaire, d'une zone inondable qui s'assèche entièrement en été, d'un espace agricole qui occupe une faible superficie lors de l'assèchement de la zone d'inondation, d'un Oued et de son embouchure et enfin, d'une plage et d'une zone marine. Les espèces végétales rares représentent 18 % du total d'espèces recensées à Beni Belaid (Gana, 2013).

### **3.7. Marais de la Mekhada (El Taref)**

Le marais de la Mekhada est une zone humide à eaux douces, à l'exception de sa partie aval, dont les eaux sont saumâtres en raison du contact à l'embouchure avec la mer méditerranéenne. Il se situe à 20 km à l'est de la ville d'Annaba. Au nord, le marais est bordé par des dunes littorales le séparant de la méditerranéenne. C'est une immense zone marécageuse d'une profondeur de 0,5 à 1 m. Sa végétation se compose essentiellement de scirpes qui recouvrent plus de 80 % de sa superficie (Gana, 2013).

### **3.8. Réserve naturelle du lac de Reghaia (Alger)**

Le lac de Réghaia correspond à l'estuaire de l'Oued Réghaia dont l'embouchure est barrée par un cordon dunaire. Aujourd'hui, ces dunes sont doublées à quelque 600 m en amont d'une digue artificielle qui retient un lac permanent. Le site s'étend sur plus de 3 km de long et plusieurs centaines de mètres de large. La petite île Agueli fait face au lac à 1 km en mer et permet des échanges du point de vue ornithologique, notamment pour les Lardes et le Grand cormoran (Gana, 2013).

**3.9. La lagune mellah et le lac bleu (El Taref)**

Mellah est l'unique lagune en Algérie d'une profondeur maximale de 6 m reliée à la mer par un chenal artificiel long de 900 m. Ce site est important pour l'alevinage de poissons qu'y vivent et s'y reproduisent. Le lac bleu situé sur la berge est du Mellah, est une dépression interdunaire d'eau douce alimentée par la remontée de la nappe phréatique et des eaux de pluies et s'infiltrant à travers les sables des dunes qu'il entourent. Sa flore est composée essentiellement d'une ceinture de végétation émergente qui occupe le pourtour du site, et constitué de phragmites et au centre de nénuphar (Gana, 2013).

**4. L'importance de l'eau**

L'eau est l'élément essentiel à la vie (l'eau c'est la vie). Elle recouvre plus de 71% de surface de la terre (Cazenave et *al.*, 2002).

Elle rentre dans toutes les compositions de la matière vivante. Elle est aussi responsable et indispensable à toute activité biologique et chimique. Il n'y a que 2,6 % de l'eau douce sur terre ; moins de 1% est directement accessible, le reste est sous forme de glace (Kadouche, 2013).

Cette eau est utilisée et souillée dans la nature et devient de plus en plus contaminée par des polluants générés par les activités humaines et/ou naturelles (Kadouche, 2013)

Plusieurs retenues de barrages et de lacs naturels évoluent rapidement vers l'eutrophisation suite à une productivité accrue stimulée continuellement par les apports de fertilisants et un changement de climat de plus en plus sec. Parmi les principaux symptômes indésirables de cette eutrophisation, on trouve la prolifération massive de plus en plus préoccupante de cyanobactéries potentiellement toxiques (Bouaïcha, 2002).

Cette eau est utilisée et souillée dans la nature et devient de plus en plus contaminée par des polluants générés par les activités humaines et ou naturelles (Kadouche, 2013).

De toutes les ressources renouvelables de la terre, l'eau douce est celle dont le manque est le plus implacable pour l'humanité. Impossible à remplacer, elle est essentielle à la production d'aliments, au développement économique et à la vie elle-même. Sur une planète dont plus

des deux tiers sont recouverts d'eau, l'illusion de l'abondance a caché la réalité que l'eau douce et pure sera un bien de plus en plus rare (Gadelle, 1995).

## **5. La pollution**

### **5.1. Notion de pollution**

La pollution des eaux est définie comme « tout changement défavorable des caractéristiques naturelles (biologiques ou physico-chimiques) dont les causes sont directement ou indirectement en relation avec les activités humaines ». La mauvaise qualité de l'eau peut être induite par des activités anthropiques ou par des phénomènes naturels. Dans la plupart des cas la pollution apparaît comme un dépassement aux normes définie en fonction des usages de l'eau (El Ouali Lalami et *al.*, 2011).

Selon leur origine et du fait que la formation de la pluie résulte de la condensation de l'eau contenu dans l'air mais l'air contient aussi des particules et des gaz d'origine naturelle et/ou d'origine humaine qui se dispersent, circulent dans l'atmosphère et vont se déposer au sol soit par temps sec soit par temps humide, au contact de l'eau, les gaz peuvent se transformer en acides. La pluie va donc naturellement se charger d'acides et de particules. Il y'a un lien naturel entre pollution atmosphérique et pollution de la pluie (El Ouali Lalami et *al.*, 2011).

### **5.2. Classification des pollutions**

Si l'on cherche à classer les matières polluantes, c'est pour essayer de s'y retrouver et de bien choisir les procédés qui permettront de l'éliminer. La nature des matières polluantes de l'eau dépend bien sûr, de l'origine de l'eau usée. On les classe en fonction des caractéristiques décrites ci-dessous (Zgheib, 2009).

#### **5.2.1. Matière organique ou minérale**

- **Matière organique :** c'est la matière qui est principalement issue de la matière vivante (végétaux, animaux....) et de l'industrie chimique parfois. On y trouve des sucres, des protéines, des acides organiques (lactique, acétique...), des acides gras, des macromolécules comme l'amidon, la cellulose... (Zgheib, 2009).

- **Matière minérale** : il s'agit des sels, toutes les matières structurées autour du silicium, On y retrouve les métaux lourds, l'ammoniac, les nitrates, les phosphates..., et le gaz carbonique (Zgheib, 2009).

### 5.2.2. Matière soluble ou insoluble

La matière organique ou minérale peut être sous forme soluble ou insoluble.

- **Matière soluble** elle est dissoute dans l'eau et se trouve donc souvent sous forme d'unité chimique simple, la molécule, ou de macromolécules comme les protéines, les colloïdes... qui «flottent » dans l'eau mais que l'on ne voit pas (Zgheib, 2009).
- **Matière insoluble** C'est un agrégat de matière qui se retrouve sous forme particulaire. Les particules solides qui peuvent, soit flotter, soit tomber en fonction de leurs densités (Zgheib, 2009).

### 5.2.3. Matières toxiques ou non

Parmi les différentes matières présentes dans des eaux polluées, certaines ont une toxicité élevée pour le monde vivant. C'est à dire qu'à très faible concentration, elles ont un impact important sur l'équilibre du milieu naturel. Par exemple le cyanure en très faible quantité peut avoir un effet dévastateur sur un écosystème. C'est le cas aussi de métaux lourds comme le cadmium, le mercure par exemple qui, présent en très faible quantité, modifient fortement l'équilibre des écosystèmes (Zgheib, 2009).

### 5.2.4. Matière inerte ou vivante

Les eaux polluées contiennent des matières organiques ou/et minérales qui n'ont donc pas les caractéristiques du «vivant » et que l'on peut qualifier de «matières inertes ».

Mais on y trouve aussi, très souvent, des micro-organismes (des bactéries par exemple), qui sont de la matière vivante. Ces micro-organismes se développent dès que l'eau est souillée. Ils peuvent être pathogènes ou pas (Zgheib, 2009).

**5.3. Différents types de pollution****5.3.1. Pollution domestique**

Elle provient des habitations, elle est en générale véhiculée par le réseau d'assainissement.

Elle se caractérise par :

- de fortes teneurs en matières organiques ;
- des sels minéraux, dont l'azote et le phosphore ;
- des détergents ;
- des germes fécaux (Genin et *al.*, 2003).

**5.3.2. Pollution agricole**

Les pratiques agricoles peuvent constituer une source diffuse de la pollution aux conséquences importantes sur la qualité de l'eau. Les éléments fertilisants (essentiellement l'azote et le phosphore provenant des engrais et de l'élevage), les pesticides, les sels et les agents pathogènes sont les principaux polluants des masses d'eau dont l'agriculture est responsable, sous effet du ruissellement et du lessivage des sols, mais aussi les rejets provenant des élevages et des réseaux d'irrigation (OCDE, 2008).

**5.3.3. Pollution industrielle**

Les industries génèrent des polluants très nombreux et de toxicité variable (Thill et Ezin, 2002).

La pollution industrielle comprend les matières solides en suspension, les sels dissous, les hydrocarbures, les éléments traces ou micro polluant (par exemple le cadmium rejeté par les teintureries ou le chrome rejeté par les tanneries) et les rejets acides ou basiques qui influent sur le pH de l'eau (Tazi, 2007).

**5.4. La nature de polluants et leur toxicité**

Le pouvoir polluant d'une substance est déterminé par deux facteurs principaux :

- la dose d'introduction dans le milieu récepteur, déterminé par concentration dans l'eau et le volume d'eau en mouvement;
- la fréquence des apports, dont la répétition accroît les risques car les sédiments et les êtres vivants ont un effet cumulatif (Baptiste et Rabel, 1995).

**5.4.1. Pollution physique**

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale est accompagnée d'organismes pathogènes. L'ensemble de ces organismes peut être classé en quatre grands groupes, par ordre croissant de taille : les virus, les bactéries, les protozoaires et les helminthes (Baumont *et al.*, 2004).

**5.4.2. Pollution mécanique**

Elle résulte des décharges de déchets et de particules solides apportés par les eaux résiduaires industrielles, ainsi que les eaux de ruissellement. Ces polluants sont soit les éléments grossiers soit du sable ou bien les matières en suspension MES (Galaf, 2003).

**5.4.3. Pollution thermique**

Les eaux rejetées par les usines utilisant un circuit de refroidissement de certaines installations (centrales thermiques, nucléaires, raffineries, aciéries..); l'élévation de température qu'elle induit diminue la teneur en oxygène dissous. Elle accélère la biodégradation et la prolifération des germes. Il se trouve qu'à charge égale, un accroissement de température favorise les effets néfastes de la pollution (Redvet, 2009).

**5.4.4. Pollution radioactive**

La pollution radioactive est générée par la radioactivité. Elle prend ses origines dans la nature (ex : radon), dans l'industrie (ex : pour la production de l'électricité nucléaire, dans le domaine médical), au niveau militaire (ex : pour les bombes atomiques) ou lors d'accident

(comme Tchernobyl ou les éléments se dispersent dans l'atmosphère, le sol et l'eau). La pollution radioactive est invisible et est nocive pour l'Homme.

En effet, les radioéléments ont une durée de vie plus ou moins longue et se désintègrent en émettant des rayonnements dangereux. Lorsque des radioéléments sont fixés dans le corps humain, ils peuvent être dangereux même si la quantité totale de rayonnements émis est faible, car ils atteignent les cellules et peuvent créer des tumeurs (caractère mutagène des radiations) (Bonche, 2002).

### **5.5. Pollution microbiologique**

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales.

Cette flore entérique normale est accompagnée d'organismes pathogènes. L'ensemble de ces organismes peut être classé en quatre grands groupes, par ordre croissant de taille : les virus, les bactéries, les protozoaires et les helminthes (Baumont *et al.*, 2004).

#### **5.5.1. Les virus**

Les virus ne sont pas naturellement présents dans l'intestin, contrairement aux bactéries. Ils sont présents soit intentionnellement (après une vaccination contre la poliomyélite, par exemple), soit chez un individu infecté accidentellement. L'infection se produit par l'ingestion dans la majorité des cas, sauf pour le coronavirus où elle peut aussi avoir lieu par inhalation (CSHPF, 1995).

On estime leur concentration dans les eaux usées urbaines comprise entre  $10^3$  et  $10^4$  particules par litre. Leur isolement et leur dénombrement dans les eaux usées sont difficiles, ce qui conduit vraisemblablement à une sous-estimation de leur nombre réel.

Les virus entériques sont ceux qui se multiplient dans le trajet intestinal ; parmi les virus entériques humains les plus importants, il faut citer les entérovirus (exemple : polio), les rotavirus, les rétrovirus, les adénovirus et le virus de l'Hépatite A (Asano, 1998).

**5.5.2. Les bactéries**

La quantité moyenne de bactéries dans les fèces est d'environ  $10^{12}$  bactéries/g (Asano, 1998).

Les eaux usées urbaines contiennent environ  $10^6$  à  $10^7$  bactéries/100 ml dont  $10^5$  *Proteus* et entérobactéries,  $10^3$  à  $10^4$  streptocoques et  $10^2$  à  $10^3$  Clostridium. Parmi les plus communément rencontrées, on trouve les salmonelles dont on connaît plusieurs centaines de sérotypes différents, dont ceux responsables de la typhoïde, des paratyphoïdes et des troubles intestinaux. Des germes témoins de contamination fécale sont communément utilisés pour contrôler la qualité relative d'une eau ce sont les coliformes thermo tolérants (Faby, 1997).

**5.5.3. Les protozoaires**

La plupart des protozoaires pathogènes sont des organismes parasites. Certains protozoaires adoptent au cours de leur cycle de vie une forme de résistance, appelée kyste. Cette forme peut résister généralement aux procédés de traitements des eaux usées (Baumont *et al*, 2004).

Parmi les protozoaires les plus importants du point de vue sanitaire, il faut citer *Entamoeba histolytica*, responsable de la dysenterie amibienne et *Giardia lamblia* (Asano, 1998).

**5.6. Polluants chimiques**

L'eau par son pouvoir dissolvant élevé, dissout les substances rejetées par l'activité humaine. Les polluants chimiques sont nombreux et d'origines diverses : sels minéraux dissous, métaux lourds, pesticides, détergents et hydrocarbures (Baptiste et Rabel, 1995).

**5.6.1. Nitrates**

Les nitrates sont essentiellement d'origine agricole, leurs teneur maximum dans l'eau potable est fixé à 44 mg/l. Les plus nocifs sont les composés de l'azote, nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) et nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ). Ils provoquent des troubles graves chez les jeunes vertébrés par dégradation de l'hémoglobine du sang (Baptiste et Rabel, 1995).

Les nitrates ne sont pas directement toxiques pour l'Homme. Le risque provient de leur transformation en nitrites dans l'appareil digestif. Ils provoquent l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine, celle-ci est alors incapable d'assurer le transport de l'oxygène. La pollution par les nitrates intervient quand l'apport d'engrais n'est pas

complètement utilisé par les plantes. Les nitrates, solubles dans l'eau, descendent vers les nappes à des vitesses variables selon la nature du sol (Baptiste et Rabel, 1995).

### **5.6.2. Phosphates**

Les phosphates rejetés dans l'environnement proviennent des sources agricoles (engrais) et industrielles, de déjections humaines et de détergents ou lessives phosphatées. Les phosphates sont les principaux responsables du phénomène d'eutrophisation. En effet, non toxiques en eux-mêmes pour la vie animale et végétale, ils portent atteinte à l'environnement dès qu'ils sont en fortes concentrations : ils deviennent alors de véritables engrais pour les milieux aquatiques qu'ils enrichissent en matière organique (Baptiste et Rabel, 1995).

### **5.6.3. Sulfates et chlorures**

Sont naturellement présents dans l'eau souterraine (dissolution des sels minéraux des réservoirs). Les chlorures, par leurs persistances dans tous les milieux, constituent d'excellents traceurs naturels. Leur teneur maximum dans l'eau potable est fixée à 250 mg/l (Baptiste et Rabel, 1995).

## **5.7. Eutrophisation des eaux douces**

A l'origine, l'eutrophisation était définie comme un phénomène naturel qui conduit progressivement, à l'échelle des temps géologiques, au comblement des lacs peu profonds et à la formation de marais puis de prairies et de forêts (Anderson *et al.*, 2002).

Ce comblement est le résultat du processus de vieillissement des lacs qui se produit naturellement sous l'action d'un apport en nutriments et en sédiments généré par l'érosion et le ruissellement (Carpenter *et al.*, 1998).

Ce phénomène peut également être grandement accéléré par les activités humaines, auquel cas le comblement intervient en quelques décennies au lieu de plusieurs centaines voire milliers d'années. Cependant, le terme « eutrophisation » a ensuite été extrapolé à l'enrichissement en nutriments des cours d'eaux, estuaires et milieux marins, même si les conséquences écologiques diffèrent (Smayda, 2008).

L'eutrophisation est un processus de transformation, de vieillissement des lacs qui se définit par la prolifération de plantes aquatiques et des algues. Un lac va être comblé petit à petit par

les apports de sédiments provenant des tributaires et par le dépôt de matières organiques de façon naturelle. Ce phénomène naturel se produit toutefois sur des milliers, voire des centaines de milliers d'années. Cependant, il est fortement accéléré par les matières nutritives et les sédiments apportés par diverses activités humaines (ARLW, 2010).

L'azote et le phosphore sont naturellement des facteurs limitant du développement des organismes photosynthétiques dans les milieux aquatiques. Lorsqu'ils sont apportés en quantités importantes dans le milieu par les activités anthropiques, leur abondance provoque la prolifération des producteurs primaires (algues, cyanobactéries) (Bartram et Chorus, 1999).

Les apports en azote et en phosphore dans les milieux aquatiques peuvent être d'origine naturelle ou anthropique. Les sources naturelles d'apports en ces éléments sont : l'érosion continentale, la décomposition bactérienne et les apports atmosphériques (Van Hullebusch, 2002).

Les sources anthropiques d'apport en nutriments peuvent être diffuses ou ponctuelles. Ces apports sont véhiculés via les eaux souterraines, fluviales ou les dépôts atmosphériques. Les sources ponctuelles tendent souvent à être continues et peu variables dans le temps tandis que les sources diffuses sont plus intermittentes et irrégulières. Ainsi, il est plus facile de contrôler et de mettre en place des systèmes de traitement pour limiter les rejets d'azote et de phosphore dans le milieu aquatique au niveau des sources ponctuelles qu'au niveau des sources diffuses (Carpenter *et al.*, 1998 ; Smith *et al.*, 1999).

## **5.8. Impact de la pollution**

### **5.8.1. Sur le milieu naturel**

L'incidence des rejets sur notre environnement peut s'apprécier au regard des élévations de températures, des modifications du pH, des consommations d'oxygène du milieu ainsi que des effets spécifiques inhérents à chaque polluant. Ceci conduit à la modification de l'équilibre des écosystèmes (Laouina, 2010).

Les modifications de température de pH, perturbent le développement normal de la faune et de la flore. Le rejet de matière organique entraîne une surconsommation d'oxygène par les micro-organismes et en prive d'autant les poissons. Les matières en suspension conduisent

aussi au colmatage des branchies des poissons, les rejets d'azote et de phosphore favorisent l'eutrophisation des lacs... (Laouina, 2010).

### **5.8.2. Sur l'économie**

La prolifération d'algues conduit à des nuisances qui perturbent fortement l'activité touristique... Cette prolifération est attribuée aux rejets de polluants azotés et phosphorés locaux ou d'ailleurs. Le maintien de l'activité touristique implique l'élimination de ces nuisances (Makhoukh *et al.*, 2011).

### **5.8.3. Sur la santé**

Les maladies liées à la présence d'éléments pathogènes ou de molécules toxiques sont très répandues. Les parasitoses d'origine hydrique dominent très largement la pathologie des habitants du tiers monde

- Paludisme (un million de décès par an, 100 à 150 millions de cas annuels dont 90% en Afrique, et 300 millions de porteurs de parasites) ;
- Filaires (maladie due à un vers injecté par des moustiques sous les climats chauds et humides)
- Le choléra, due aux vibrions cholériques présent dans les eaux souillées ;
- L'hépatite A (due à un virus présent aussi dans les eaux polluées) ;
- Et les autres comme les dysenteries d'origines parasitaires, bactériennes et virales aux conséquences qui peuvent être très grave chez le jeune enfant (Makhoukh *et al.*, 2011).

Les métaux lourds comme le mercure, le plomb, le cadmium, le cuivre.....présentent la particularité de se concentrer dans la chaîne biologique. Ils ne sont pas dégradables, leur présence est donc rémanente. Ils conduisent à des pathologies diverses en fonction de leurs natures, pathologies qui peuvent être très graves, voir mortelles (Langevin *et al.*, 2000).

## **6. La bioremédiation**

La bioremédiation est un ensemble de techniques mettant en œuvre des procédés de biodépollution, utilisables pour réduire la toxicité, la mobilité ou le volume d'un contaminant dans les sols, le sous-sol, les eaux et les effluents gazeux (Roger & Jack, 2000).

**6.1. Le principe**

La bioremédiation est une méthode basée sur l'activité naturelle que possèdent de nombreux organismes, généralement soit des bactéries, des micro algues ou des champignons, dégradants les polluants en composés inertes, comme l'eau et le gaz carbonique. Ces organismes peuvent être déjà présents dans la zone polluée (indigènes) ou ajoutés au milieu (exogène), ou encore être prélevés sur le site contaminé, cultivées au laboratoire puis réintroduits dans le sol. La bioremédiation se déroule généralement en condition d'aérobie, toutefois l'application des systèmes de bioremédiation en condition d'anaérobie permet de dégrader un certain nombre de molécules récalcitrantes (Chedly, 2006).

**6.2. Conditions de choix d'un procédé de bioremédiation**

Plusieurs critères permettent de juger de la possibilité de réaliser ou non un procédé de bioremédiation tels que le choix de la population bactérienne, son efficacité *in situ* ou *ex situ*, le choix du procédé et sa rentabilité. Il est aussi plus facile d'éliminer un polluant à un endroit précis que s'il est dispersé sur l'ensemble d'une zone donnée ; d'éliminer un seul polluant à la fois. L'estimation de la réalisation d'un procédé passe par 4 étapes qui sont la recherche des microorganismes performants, des tests de laboratoire pour définir les conditions optimales de la dégradation, le dispositif approprié, le contrôle de l'efficacité du procédé et le coût (Roger & Jack, 2000).

**6.3. Facteurs influençant la bioremédiation**

De nombreux facteurs peuvent avoir un effet sur la bioremédiation. La nature, la concentration et le volume des produits à traiter influencent, car les bactéries sont efficaces à des concentrations relativement faibles de polluant. Il y'a aussi les difficultés d'adaptation des souches bactériennes *in situ*, les réalités au laboratoire sont différentes des réalités sur le terrain. Le fait que le polluant soit dispersé de façon hétérogène sur le site représente un facteur majeur. Le biotope peut subir des modifications pendant le changement de saison ce qui peut ralentir ou stopper l'activité microbienne. Enfin, il est important de vérifier que l'activité microbienne ne dégage pas des composés plus toxiques pouvant être nuisibles aux êtres vivants (Baker & Herson, 1994).

**6.4. Les techniques de la bioremédiation**

Ils existent des traitements de bioremédiation *in-situ* et d'autres sur ou hors-situ.

**6.4.1. La bioremédiation *in-situ***

Il s'agit de traitements biologiques directement appliqués sur le site à dépolluer.

Ils ont l'avantage de ne pas nécessiter d'excavation et de permettre, éventuellement, la poursuite des activités (Alexander, 1994).

Pour une bioremédiation *in situ*, on distingue deux techniques qui sont l'approche écologique microbienne et le traitement microbien (Roger & Jack, 2000).

Pour l'approche écologique microbienne, il faut adapter les caractéristiques physiques et chimiques du site pour optimiser l'activité microbienne dépolluante après que la présence de ces derniers ait été prouvée. Pour le traitement microbien, soit la population microbienne capable de dégrader le polluant doit être augmentée sur le site une fois que leur présence a été prouvée ou il faut déverser des microorganismes externes au site qui vont assurer la dégradation sur le site pollué.

- **La bioremédiation intrinsèque ou bio-atténuation**

C'est simplement la biodégradation naturelle des polluants par les microorganismes présents dans le sol ou la nappe. Cette méthode consiste uniquement à vérifier la présence et la capacité des micro-organismes utilisés pour dégrader les polluants (khalil, 2004).

- **La bio-stimulation**

Cette technique consiste à remonter l'activité des populations microbiennes présentes dans le sol ou dans les eaux souterraines par apport de nutriments et par ajustement des conditions du milieu qui sont le potentiel d'oxydo-réduction, l'humidité et la température (khalil, 2004).

- **La bioaugmentation**

Cette technologie consiste à introduire des cultures de microorganismes 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 apportée à la surface du sol dans les conditions naturelles ou injectée dans le site contaminé sous pression. Cette technologie est largement utilisée pour décontaminer les sites contenant des hydrocarbures (King *et al.*, 1997).

- **La bioinjection**

C'est la fragmentation des grosses molécules par le couplage de l'injection d'air ou d'oxygène à l'activité biologique normale des micro-organismes suivi d'un entraînement par le flux gazeux (Khalil, 2004).

- **La bioextraction**

Elle suit le même chemin sauf que c'est un couplage de l'activité biologique des micro-organismes et de l'extraction sous vide des polluants (khalil, 2004).

- **La biofiltration**

Consiste à l'utilisation d'un biofiltre pour traiter les émissions gazeuses. Le principe consiste à utiliser des microorganismes pour dégrader les polluants contenus dans l'air à traiter : la phase aqueuse (l'air contaminé) est mise en contact avec une phase aqueuse dans laquelle se développe la population microbienne, connue aussi sous le nom de la biomasse. Dans une unité de biofiltration, l'air à épurer (à dépolluer) traverse d'abord un filtre et un humidificateur afin de supprimer les particules (poussières, graisses) présentes dans le gaz et d'amener le niveau d'humidité à 100%. L'air est ensuite introduit dans un réacteur (une cuve) contenant un garnissage formé de matériaux très poreux (très avide pour l'humidité).

A la surface des particules qui constituent le garnissage se trouve un biofilm qui correspond à une pellicule d'eau contenant des microorganismes (bactéries et champignons) dont la fonction est de dégrader les polluants présents dans l'air à traiter. Cette technologie est par exemple utilisée pour traiter l'air polluer par le xylène ou par des composés azotés (King, *et al.*, 1997).

- **La Phytoremédiation**

Est définie comme l'utilisation des plantes pour éliminer ou transformer les polluants en composés moins toxiques. Bien que les plantes soient utilisées depuis longtemps pour dépolluer les sols, d'importantes découvertes scientifiques réalisées au cours de ces dix dernières années ont contribué à améliorer le processus et à étendre son champ d'application. Elle peut être utilisée aussi bien contre les polluants organiques que les polluants inorganiques présents dans les milieux solides (sols), liquides (eaux de surface et souterraines) et gazeux (Alexander, 1994).

La Phytoremédiation regroupe :

- **la phytoextraction** : utilisation des plantes pour extraire du sol les polluants organiques et les métaux et les concentrer dans les organes de la plante destinés à la récolte ;
- **la rhizofiltration** : correspond à l'utilisation des racines pour absorber et accumuler les polluants (métaux) des eaux usées ;
- **la phytostabilisation** : utilisation des plantes pour limiter l'érosion et immobiliser les polluants dans les couches superficielles évitant en particulier leur migration vers les eaux de surface et souterraines ;
- **la phytovolatilisation** : utilisation des plantes pour extraire les polluants du sol et les transformer en composés volatils ;
- **la phytodégradation** : utilisation de l'association plantes/microorganismes pour dégrader les polluants organiques du sol (Grindstaff, 1998).

### 6.4.2. La bioremédiation sur ou hors-site

- **L'épandage (landfill)**

C'est une méthode très ancienne qui consiste à étaler en couche très fine le sol pollué de manière à favoriser son aération naturelle. Le principal problème qui se pose est de contrôler les migrations possibles des polluants dans le sol support (Khalil, 2004).

- **Le compostage**

Peut être défini comme un procédé biologique contrôlé qui assure la transformation et la valorisation des matières organiques (sous-produits de la biomasse, déchets organiques d'origine biologique) en un produit stabilisé, hygiénique, semblable à un terreau riche en composés humiques le compost. C'est la fermentation des ordures ménagères organiques (résidus alimentaires) et des déchets verts (feuillages, résidus de jardinage) afin de produire un compost réutilisable en agriculture ou dans le jardin pour fertiliser la terre.

L'aération et l'humidité sont deux éléments indispensables pour entretenir les conditions d'une bonne fermentation. Le compostage peut se faire chez soi ou collectivement par des procédés industriels (Alexander, 1994).

- **La biopile**

C'est un compostage élaboré où tous les paramètres biologiques et physicochimiques sont parfaitement contrôlés.

Les matières à traiter sont empilées dans un ordre précis jusqu'à 2 à 4 m de hauteur. L'intercalation de drains, permet l'aération du milieu, si l'on souhaite faire une dégradation aérobie. La technologie de biodégradation en tas (piles) est utilisée pour la décontamination de sols pollués aux hydrocarbures légers (essence, diesel, huile à chauffage, mazout léger, huiles usées) (Grindstaff, 1998).

### **6.5. Bioremédiation par les microorganismes**

La nécessité de dépolluer les sites contaminés a conduit développement de nouvelles technologies de l'environnement qui ont pour objectif de détruire les composés xénobiotiques plutôt que de les accumuler dans les décharges. La bioremédiation est une option qui offre la possibilité de détruire ou de rendre moins toxiques les polluants en utilisant des activités biologiques naturelles. Les microorganismes sont utilisés depuis environ un siècle pour le traitement des eaux usées et des compostes. Ce qui est nouveau c'est l'utilisation de ce procédé microbiologique pour nettoyer les sols, les eaux souterraines, es estuaires etc. Les systèmes sont différents en raison de la nature du polluant et du milieu où se déroule la dégradation.

Les sites sont fréquemment contaminés par un mélange de composés organique très complexes comme par exemples les huiles minérales ou les solvants industriels. A cela s'ajoutent des polluants inorganiques comme les métaux lourds.

La bioremédiation est le meilleur processus de dépollution en raison de sa haute efficacité, son faible cout et surtout ne provoquant pas de pollution secondaire (Mingjun *et al.*, 2009).

### **6.5.1. Les microorganismes utilisés en bioremédiation**

Ils proviennent de milieux très variés et peuvent vivre dans des conditions extrêmes : des températures en dessous de 0°C ou au contraire, très élevées, dans des milieux inondés ou en plein désert, en présence d'un excès d'oxygène ou milieu anaérobie. En raison de leur pouvoir d'adaptation, ces microorganismes sont utilisés pour éliminer les composés xénobiotiques.

Parmi les bactéries aérobies reconnues pour leur pouvoir de dégradation, nous pouvons citer celles appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Sphingomonas* et *Mycobacterium*.

Elles peuvent dégrader les pesticides, les hydrocarbures, les alcanes et les composés

polyaromatiques. Souvent, elles utilisent le polluant comme source de carbone et d'énergie. Les bactéries anaérobies sont moins fréquentes que les aérobies. Cependant, elles présentent un grand intérêt dans la bioremédiation des polyphénylspolychlorés, du trichloroéthylène et le 1,2 dichloroéthane. Dans tous les cas, l'opération implique le contrôle non seulement de la disponibilité des dépollueurs mais aussi l'ajustement en permanence des conditions de leur efficacité: quantité et type de nutriments, concentration en oxygène, pH, température et salinité (Ellouze *et al.*, 2007).

### **6.5.2. Les bactéries utilisées en bioremédiation**

- *Staphylococcus xylosus*

*Staphylococcus xylosus* est une bactérie Gram positive, anaérobies facultatives, coagulase-négative à faible pourcentage en bases G et C. Elle appartient au groupe des staphylocoques à coagulase négatives. C'est une bactérie commensale de la peau (Planchon *et al.*, 2006).

Cette bactérie est utilisée comme ferment pour la fabrication des produits carnés (saucisson) et laitiers (fromage). Elle joue un rôle important dans le processus de fermentation en participant aux caractéristiques sensorielles des produits (Planchon et *al.*, 2006).

➤ **Application en bioremediation**

La *S. xylosus* est utilisée dans plusieurs domaines de la bioremédiation. Elle est résistante à la forte salinité et capable de réduire 15 % de NaCl et 40% des sels biliaires donc cette bactérie est utilisée pour le traitement biologique des eaux usées salines (Abou-Elala et *al.*, 2010).

La *S. xylosus* a aussi une capacité importante de dégrader le 1,2 dichlorobenzène (1,2 DCB) et le 2,4-dichlorophénol (2,4-DCP) qui sont deux composants aromatiques utilisés dans les produits pharmaceutiques et pesticides. Cette capacité est utilisée pour la bioremédiation des sites pollués par ces molécules nocives (Ziagovaa, 2010).

- ***Serratia marcescens***

La *S. marcescens* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, qui peut produire des pigments. Elle est Gram négatif, ONPG-positives, VP-positives. D'une manière générale, les espèces du genre *Serratia* sont isolées des plantes (légumes, champignons, mousses), du tube digestif des rongeurs, des insectes, de l'eau et du sol.

Cette bactérie est rarement pathogène, mais elle est fréquemment présente dans l'environnement hospitalier et certaines souches sont responsables d'infections nosocomiales (Abo-Amer, 2010).

➤ **Application en bioremédiation**

Les pesticides dans le sol et l'eau peuvent être dégradés par des voies biotiques et abiotiques; Cependant, la biodégradation par les micro-organismes est le principal mécanisme de répartition des pesticides et de désintoxication en de nombreux sols.

Parmi ces microorganismes on trouve *S. marcescens* qui peut dégrader complètement 50 mg de diazinon / 1L d'un milieu minimum pendant 11 jours avec un taux de dégradation de 0,226 jours<sup>-1</sup> (Abo-Amer, 2010).

- *Micrococcus luteus*

*M. luteus* est une bactérie Gram-positive, sphérique, saprophyte faisant partie de la famille des Micrococcaceae. Aérobie obligatoire, *M. luteus* est une bactérie du sol, des poussières, de l'eau et de l'air et fait partie de la flore naturelle de la peau des mammifères. La bactérie peut aussi coloniser la bouche et des voies respiratoires supérieures humaines (Greenblat et al., 2004).

Bien que *M. luteus* n'est pas pathogène et est considérée comme un contaminant naturel, cette bactérie pourrait être un pathogène émergent engendrant des maladies nosocomiales chez des patients immunodéprimés (Greenblat et al., 2004).

➤ **Application en bioremédiation**

*M. luteus* a un rôle important dans la bioremédiation car elle possède des capacités de tolérer et utiliser les molécules organiques toxiques comme source de carbone et combine ces activités avec la tolérance aux métaux lourds (Sandrin et Maier, 2003).

Elle est souvent isolée des sols contaminés, des hydrocarbures et de boues. *M. luteus* peut dégrader les hydrocarbures et les composés oléfiniques (Zhuang et al., 2003).

- **Bactéries résistantes aux métaux lourds**

Il existe des microorganismes qui sont capables de survivre dans des milieux naturels contaminés par les métaux lourds à effet toxique, même à une forte exposition (Mergeay et al., 1985).

L'une des bactéries la plus résistante aux métaux lourds est *Cupriavidus metallidurans* CH34, elle a été caractérisée comme résistante au zinc (Zn), cadmium (Cd), cobalt (Co), et nickel (Ni) (Mergeay et al., 1985). Anciennement connue sous les noms de *Wautersia metallidurans*, est une protéobactérie isolée à la fin des années 1970 de sédiments d'un bassin de décantation d'une usine de zinc près de Liège en Belgique (Mergeay et al., 1985). Cette bactérie est un bacille non sporulant, Gram négatif, opaque, aérobie-anaérobie facultatif. Elle se développe en condition anaérobie en présence de nitrate. Elle est également capable de se développer sous condition chimolithotrophe en utilisant le dihydrogène (H<sub>2</sub>) comme source d'énergie et le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) comme source de carbone (Taghavi et al., 1997).

***Chapitre II***  
***Matériel et méthodes***

## 1. Présentation du milieu d'étude

### 1.1. Localisation générale

Le Lac Oubeïra est situé à 3 Km à l'Ouest de la ville d'El-Kala, dans la Wilaya d'El-Tarf à l'extrême Nord-Est de l'Algérie. La grande ville la plus proche est Annaba à 70 Km à l'Ouest. Il est limité au Nord-Est par Djebel Boumerchene, à l'Est par les monts D'El-Kala et ceux d'El Frine et au Nord-Ouest par la lagune EL Mellah (**Fig. 01**). Cette étendue d'eau douce totalise une superficie globale de 229.110 km<sup>2</sup>.

Le lac Oubeïra est situé à une altitude de 36°50' Nord, une longitude de 08° 23'Est et une altitude de 25 mètres (par rapport du niveau de la mer) (Marre, 1987).



**Figure 01:** Localisations du lac Oubeïra (Amri, 2008).

### 1.2. Caractéristiques écologiques

#### 1.2.1. Flore

Le lac Oubeïra est le seul site du complexe de la région d'El-Kala, qui présente une organisation spatiale typique en ceinture de végétation. C'est le seul site Algérien abritant la chataîgne d'eau *Trapa natans* et le nénuphare jaune *Nuphar luteum*. On note également le nénuphare blanc *Nymphaea alba*, le Scirpe incliné *Scirpus inclinatus*, le *Sparganium erectum* et le Rubanier rameux *Zanicheliapalustris* (Boumezbeur *et al.*, 2003).

**1.2.2. Faune**

Ce lac abrite plusieurs espèces aviaires, parmi lesquelles nous citons la Talève sultane *Porphyrio porphyrio*, l'Erismature à tête blanche *Oxyura leucocephala*, le Fuligule nyroca *Aythya nyroca*, l'Ibis falcinelle *Plegadis falcinellus*, l'Oie cendrée *Anser anser*, le Flamant rose *Phoenicopterus ruber*, le Grand cormoran *Phalacrocorax carbo*, le Blongios nain *Ixobrychus minutus*, et le Balbuzard pêcheur *Pandion haliaetus*, etc. Les Mammifères sont notamment représentés par la loutre *Lutra lutra*.

Les insectes sont représentés par au moins 28 espèces d'Anisoptères (Odonates), parmi elles nous citons *Anax imperator*, *Anax parthenope*, *Ashna mixta*, *Aeschna affinis*, *Hemianaxephippiger*, *Orthetrum cancellatum*, *Acisoma panorpoides ascalaphoides* (Messerer, 1999).

**1.3. Intérêts du lac**

Le lac Oubeïra est d'un grand intérêt socio-économique par la production halieutique, ainsi que par l'exploitation de l'eau pour l'irrigation. Il a servi de source d'approvisionnement en eau potable pour la ville d'El Kala. Cependant, ce stock est aujourd'hui menacé par le pompage incontrôlé pour les cultures spéculatives et le déversement des eaux usées provenant des villages, constituent aussi une menace non négligeable dont les effets ne sont pas encore visibles (Boumezbeur, 2002 ; Boumezbeur *et al.*, 2003).

**2. Echantillonnage**

Le prélèvement d'eau de surface est réalisé avec une bouteille en plastique en raison des facilités qu'elles présentent pour le transport et la possibilité de leur usage unique étant donné leur faible coût. La bouteille est remplie en décrivant un arc de cercle vers le bas, c'est-à-dire en entrant dans les premiers centimètres de la colonne d'eau, puis en remontant vers la surface (Dorion *et al.*, 2013). L'échantillon est ensuite conservé à 4 °C.

**3. Isolement des souches bactériennes**

Une série de dilution, de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ , dans l'eau physiologique stérile (**Annexe 03**) à partir de la solution mère a été préparée (Hilali *et al.*, 2002).

Pour l'isolement de *Pseudomonas* et du *Bacillus*, 0,1 ml de chaque dilution estensemencé par stries sur la gélose cétrimide et la GN a l'amidon (**Annexe 02**), respectivement, de façon à

obtenir des colonies bien isolées. L'incubation été faite à 30°C pendant 24 H dans l'étuve (**Annexe 01**) pour le genre *Pseudomonas* et à 37°C pendant 24 H pour le genre *Bacillus*. Des repiquages successifs sur milieux sélectifs ont été réalisés afin d'obtenir de souches pures (Rejsek, 2002).

#### **4. Identification des souches bactériennes**

L'identification comporte une série des étapes, se succèdent le plus souvent dans un ordre déterminé ; les souches isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards : examen macroscopique, examen microscopique (coloration de Gram) et galerie biochimique classique.

##### **4.1. Examen macroscopique**

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. D'après (Delarras, 2007), les éléments importants de l'identification macroscopique sont : la forme des colonies, la taille des colonies, la chromogénèse, l'élévation, l'opacité, l'aspect de la surface, la consistance (type S (Smooth = lisse), type R (Rough = rugueux) et type M (Muqueux)).

##### **4.2. Examen microscopique**

###### **➤ Coloration de Gram**

Elle permet de déterminer la forme des cellules et le type de Gram.

###### **➤ Coloration des spores au vert de Malachite**

###### **• Principe**

Permet de mettre en évidence la présence de spore au sein d'une cellule bactérienne.

###### **• Technique**

Elle consiste à préparer un frottis, recouvrir la lame avec le vert de malachite et chauffer (éventuellement sur plaque chauffante) jusqu'à émission de vapeurs blanches sans faire bouillir le colorant ni laisser sécher la préparation ; le chauffage doit durer 10 min.

Laisser refroidir et laver à l'eau, en suite effectuer une contre – coloration en recouvrant la lame de Fuchsine durant 2 min-, enfin laver et sécher la lame.

- **Lecture**

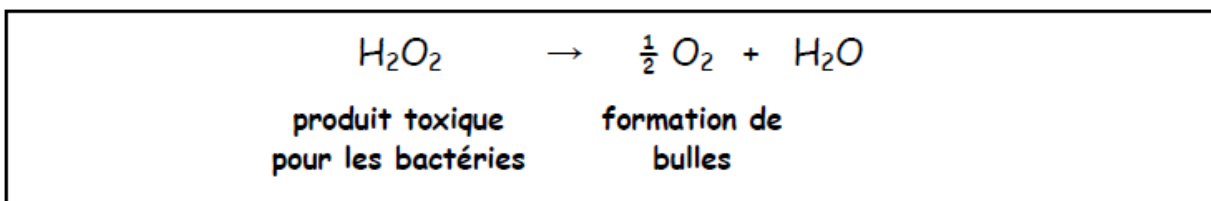
L'observation se fait à l'objectif x100 à immersion. Les spores apparaissent vertes et les cellules roses, elles peuvent être déformantes ou non déformantes, terminales, subterminales ou centrales.

### **4.3. Identification biochimique**

#### **4.3.1. Recherche de la catalase**

- **Principe**

La catalase est une enzyme ayant la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante:



- **Technique**

La catalase a été révélée en déposant sur une lame en verre propre, une colonie bactérienne en présence d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

- **Lecture**

Une réaction catalase positive se traduit par l'apparition de bulles, suite au dégagement gazeux d'oxygène (Lévy *et al.*, 1992).

#### **4.3.2. Test de l'oxydase**

- **Principe**

Le test est à la base de l'identification des bactéries Gram -. Il permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine.

- **Technique**

A l'aide d'une pince, on dépose sur une lame propre un disque de diméthyl-paraphénylène diamine (disque oxydase) préalablement trempé dans de l'eau distillée stérile. Après, on prélève une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une anse de platine et on l'étaler sur le disque.

- **Lecture**

Une coloration violette foncée apparaît immédiatement sur le disque ou en quelque seconde puis elle vire vers le noir ; la réaction est tardive entre 10 et 60 secondes, et elle est négative après 60 secondes.

### 4.3.3. Test Mannitol Mobilité

- **Principe**

Le milieu Mannitol mobilité (**Annexe 02**) permet la recherche simultanément de la fermentation du mannitol et la mobilité des bactéries (Marchal et Bourdon, 1982).

- **Technique**

On ensemence le milieu Mannitol par piqure centrale à l'aide d'une pipette Pasteur ou l'anse de platine chargée de culture à étudier. Incubation se fait à 30°C, pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture**

Germe mobile : enrichissement partiel ou total

Germe peu mobile : petits diverticules sur les parois latérales de la piqure

Germe immobile : piqure fine et nette

La couleur jaune se traduit par le virage de l'indicateur de pH (mannitol positif).

### 4.3.4. Test ONPG

- **Principe**

Les Entérobactéries qui acidifient les milieux lactosérum possèdent d'une part, l'enzyme nécessaire à la pénétration du lactose dans la bactérie (*B*-galactosidase perméase) et d'autre

par l'enzyme scindant la molécule du lactose en glucose et galactose ( $\beta$ -galactosidase). ONPG comme le lactose est scindée en galactose et orthonitrophenol, qui donne la couleur jaune avec la solution (Daachi, 2007).

- **Technique**

Un inoculum est mis en suspension dans 0,5ml d'eau distillée stérile, après un disque est mis dans cette suspension et l'incubation est faite à 37°C pendant 24 H.

- **Lecture**

Une coloration jaune (réaction positive) traduit l'hydrolyse de l'ONPG (Daachi, 2007).

#### **4.3.5. Recherche de nitrate réductase**

- **Principe**

Ce test permet de mettre en évidence la nitrate réductase, une enzyme capable de réduire les nitrates en nitrites. Des tubes contenant un bouillon nitraté (**Annexe 02**) sontensemencés par les souches isolées, puis incubés à 37°C jusqu'à l'obtention d'une culture abondante. Après l'incubation, on ajoute aux cultures quelques gouttes du réactif 1 (acide parasulfanilique) ensuite du réactif 2 (alpha-naphtylamine).

- **Procédure**

L'apparition d'une coloration rose ou rouge traduit une réaction positive (réduction des nitrates en nitrites) (Krazdi *et al.*, 2013).

#### **4.3.6. Test au rouge de méthyle (RM)**

- **Principe**

C'est un test qualitatif qui permet de distinguer les Entérobactéries productrices de fortes concentrations d'acides (RM+) des bactéries faiblement productrices (RM-), par l'acidification finale d'un milieu peptoné tamponné au phosphate après fermentation du lactose. Le groupe de méthyle est l'indicateur de cette acidification, il vire au jaune à un pH > 6.3 et au rouge à un pH inférieure à 4.5.

**Procédure**

La réaction est étudiée dans le brouillon Clarck et Lubs (**Annexe 02**) qui permet de mettre en évidence cette caractéristique. L'ensemencement se fait par inoculation à partir de boîtes de repiquages et l'incubation se fait dans les conditions habituelles. Après incubation, ajouter une à deux gouttes de rouge de méthyle. La réaction est instantanée.

**4.3.7. Le test de Voges-Prauskauer (VP)**

- **Principe**

Ce test détecte la capacité de synthèse de l'acétoïne par un microorganisme, (acétyl méthyle carbino) qui est un métabolite spécifique intermédiaire de la fermentation butandiolique (VP+), elle-même caractéristique de certaines Entérobactéries.

Dans un milieu bien aéré et fortement alcalinisé (par addition de NaOH), il se produit une auto oxydation de butanediol en acétoïne et en diacétyl.

L'acétoïne réagit avec le réactif VPI (soude à la potasse) pour former le diacétyl ; ce dernier après addition du VPII va réagir avec le groupe guanidine de l'arginine pour former un complexe coloré en rose.

- **Procédure**

Le milieu Clarck et Lubs est ensemencé et incubé à 37°C pendant 24 heures, puis 1 ml de la solution potasse à 16% et 0.5 ml d' $\alpha$  naphthol (**Annexe 03**) sont ajoutés. Maintenir le tube couché pour favoriser l'oxydation. L'apparition de la couleur rose ou rouge au bout de 30 minutes traduit une réaction dite VP+.

**4.3.8. Test de TSI**

- **Principe**

Le milieu Triple Iron agar (TSI) (**Annexe 02**) permet de mettre en évidence la dégradation du glucose, lactose, saccharose, la production éventuelle du sulfure d'hydrogène et la production de gaz (CO<sub>2</sub>). Ce milieu est composé d'un culot et d'une pente et contient le rouge de méthyle comme un indicateur de pH.

- **Technique**

Ensemencer le milieu à l'aide d'une anse de platine par des stries au niveau de la pente et par une pique centrale dans le culot. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 H.

- **Lecture**

- glucose positif : culot jaune ;
- saccharose et lactose positif : la pente vire au jaune ;
- H<sub>2</sub>S positif : noircissement du milieu au niveau de la zone joignant le culot et la pente ;
- production de gaz : présence de bulles de gaz dans le culot (Krazdi *et al.*, 2013).

### 4.3.9. Utilisation du citrate comme source de carbone

- **Principe**

Le milieu utilisé est le citrate de Simmons (**Annexe 02**), dont l'unique source de carbone est le citrate de sodium, les bactéries contenant une enzyme citrate perméase seront donc capables de se développer sur ce milieu.

- **Technique**

- ensemercer le milieu par la suspension bactérienne, en strie longitudinale ;
- les tubes sont ensuite légèrement fermés et incubés à 37 °C pendant 24 H.

- **Lecture**

L'utilisation du citrate provoque l'alcalinisation du milieu qui se traduit par une couleur bleue (Akmouchitoumi, 2009).

### 4.3.10. Recherche des pigments spécifiques de *Pseudomonas*

Cette recherche a été réalisée sur les milieux King A et King B (**Annexe 02**) qui permettent de différencier les espèces du genre *Pseudomonas*, par la mise en évidence de la production de pigments spécifiques (Guillaume, 2004).

- **Principe**

L'élaboration des pigments est influencée par la composition du milieu, ce qui justifie l'utilisation de deux milieux différents :

\* La production de pyocyanine, due spécifiquement à *P. aeruginosa*, est favorisée par la présence d'ions inorganiques et de certains acides aminés qui composent le milieu King A.

\* La production de pyoverdine, caractéristique du groupe fluorescent, dépendant de la nature des peptones, est favorisée par la teneur élevée en phosphate présent dans le milieu King B (Guillaume, 2004).

- **Technique**

- Ensemencer les deux milieux King A et King B en faisant une strie médiane ou des stries serrées à la surface de la gélose. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures.

- **Lecture**

La présence des pigments diffusibles se traduit par l'apparition d'une couleur qui peut diffuser sur toute la boîte.

\* **Sur le milieu King A** : les colonies typiques sur ce milieu sont colorées en bleu vert (pyocyanine), parfois en brun rose (pyorubine).

\* **Sur le milieu King B** : la production de pyoverdine se manifeste par une coloration jaune verte, avec une fluorescence observée à la table UV (Guillaume, 2004).

## *Chapitre III*

### *Résultats et discussion*

**1. Résultats****1.1. Aspects macroscopique et microscopique**

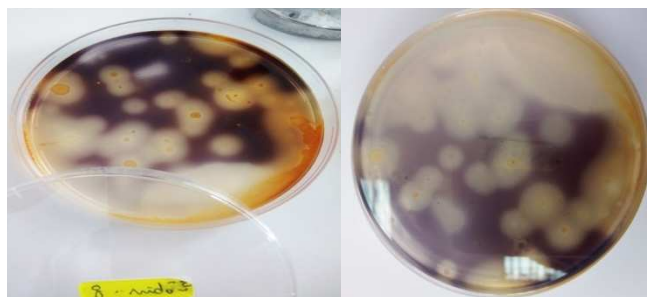
Les isollements des souches d'intérêt, appartenant aux genres *Pseudomonas* et *Bacillus* ont été réalisé sur gélose au Cétrimide et sur gélose à l'amidon, respectivement.

Une fois la période d'incubation écoulée, des colonies sont apparues à la surface de la gélose au Cétrimide, seules celles qui sont rondes, petites, convexes, lisses et de couleur verte pale avec une odeur aromatique de la fleur de seringa (jasmin) ont été prises en considération. Les résultats obtenus figurent sur la photographie 01.

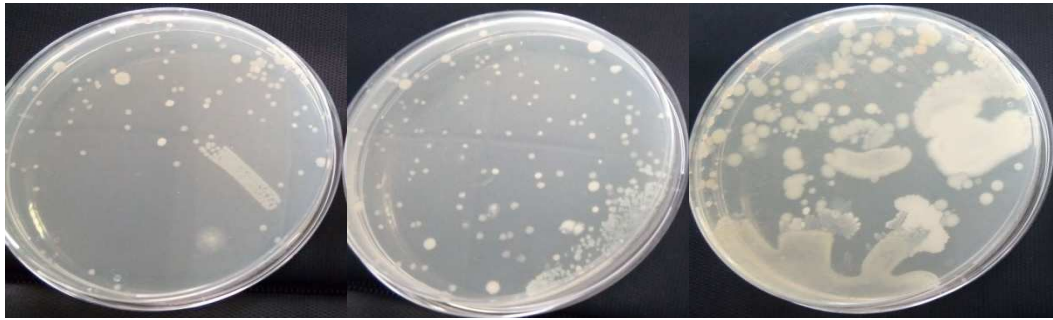


**Photographie 01** : aspect macroscopique des colonies sur gélose au cétrimide.

A la fin de l'incubation sur la gélose à l'amidon, les boites sont recouvertes de lugol ; l'absence de coloration autour de la culture indique l'absence d'amidon qui a été hydrolysée par l' $\alpha$ -amylase des *Bacillus*, test positif, en cas de coloration noire autour des cultures: présence d'amidon et ainsi un test négatif.

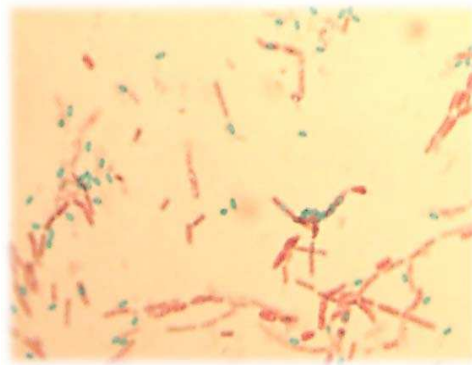


**Photographie 02** : aspect macroscopique des colonies sur milieu gélose à l'amidon recouvert par lugol (**résultat positif**)



**Photographie 03** : aspect macroscopique des colonies sur milieu gélose a l'amidon (**résultat négatif**)

Une coloration de vert de Malachite a été pratiquée sur les colonies suspectes de *Bacillus*, les observations des frottis colorés au microscope optique à l'objectif à l'immersion (G x 100) ont révélé des spores vertes et des cellules roses (Photographie04).



**Photographie 04** : aspect microscopique des spores de *Bacillus* après coloration au vert de Malachite

Le repiquage pratiqué dont le but de purifier les souches et de les identifier, nous a permis d'obtenir les résultats représentés dans le tableau I et ceci en se basant sur les caractères des colonies sur leurs milieux d'isolement ainsi que sur la coloration de Gram.

**Tableau I.** Résultats des observations macroscopique et des colorations de Gram.

milieu	Caractères macroscopique	Caractères microscopique
Milieu cétrimide	rondes, petites, convexes, lisses et de couleur blanc jaunâtre.	<b>Coccobacille a Gram négative (Annexe 04)</b>
Milieu gélose à l amidon	des colonies ondulées à contour irrégulier, translucide, blanc crème, brillante, lisse .	<b>Bacille a Gram positive (Annexe 04)</b>
	grosses colonies à aspect rugueux et à bords festonnés, Bâtonnet épais, aux bouts carrés de couleur blanc châtre.	<b>Bacille a Gram positive (Annexe 04)</b>
	gros bâtonnets à bouts arrondies, sec et de couleur Jaune .	<b>Bacille a Gram positive (Annexe 04)</b>

**1.2. Identification biochimique**

L'identification des colonies présumées appartenant aux genres *Pseudomonas* et *Bacillus* sur la base des critères morphologiques a été confirmée par une identification biochimique sur galerie classique.

Grace aux tests biochimiques, il est possible de connaitre certaines caractéristiques du métabolisme des bactéries analysées. Plusieurs résultats ont été obtenus après ajout des additifs, ce qui nous renseigne sur la voie d'attaque des glucides, la présence d'enzymes respiratoires, les voies fermentatives et le métabolisme des acides aminés.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau II. En se basant sur le tableau de lecture, on a pu identifier 04 souches bactériennes différentes.

Tableau II. Résultats des tests biochimiques des différentes espèces isolées.

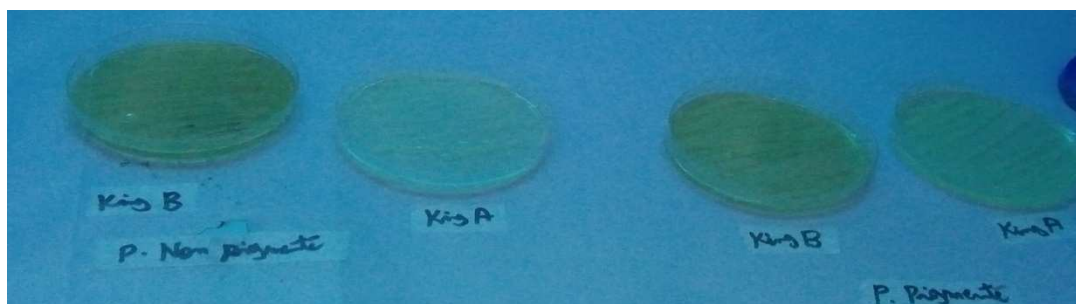
Test biochimique		Souche	<i>Pseudomonas sp1</i>	<i>Bacillus sp1</i>	<i>Bacillus sp2</i>	<i>Bacillus sp3</i>
		Type respiratoire	aérobies stricte	aérobies stricte	aeroanaérobies facultatif (AAF)	aeroanaérobies facultatif (AAF)
Métabolisme énergétique	Catalase	+	+	+	+	+
	Nitrate réductase	+	+	+	+	+
	Saccharose	-	-	-	-	-
Métabolisme glucidique	H2S	-	-	-	-	-
	Gaz	-	-	-	-	-
	$\beta$ Galactosidase (ONPG)	-	+	+	-	-
	Citrate perméase	+	+	+	+	+
	Manitol	+	+	+	+	+
	Mobilité	<b>Mobile</b>	<b>Mobile</b>	<b>Immobile</b>	<b>Mobile</b>	<b>Mobile</b>
	VP	-	+	+	-	-
	RM	+	+	-	-	-
	Milieu King	King A	+			
King B		+				

La photographie 05 montre les résultats de l'identification de la seule souche obtenue du genre *Pseudomonas*. Il s'agit d'un bacille Gram négatif, catalase +, ONPG-, mobile, aérobie stricte. La lecture du milieu TSI a révélé qu'elle est : glucose négatif, lactose négatif, saccharose négatif, gaz négatif et H<sub>2</sub>S négatif. Elle peut utiliser le citrate de sodium comme source de carbone. On a noté, qu'elle fermente le mannitol. La présence d'une coloration rouge après l'addition du réactif nitrite 1 et nitrite 2 signifie que la souche possède une nitrate réductase très active, incapable de synthétiser l'acétoïne ( ne fermente pas le butanediol (VP-)), elle produit un forte concentrations d'acides (RM+) (**Tableau II**)



**Photographie 05 :** Résultats de mini galerie classique de la souche *Pseudomonas*

Les colonies caractéristiques ont fait l'objet d'un test de mise en évidence des pigmentations spécifiques aux espèces du genre *Pseudomonas* sur gélose King A et King B. Après la période d'incubation les milieux de culture sont observés sous lampe ultraviolette (UV), les résultats obtenus sont représentés sur la photographie 06.



**Photographie 06:** Résultats d'isolement sur milieu King A et King B

On remarque que la majorité des colonies ont donné un résultat positif sur King A et aussi sur King B (fluorescence observée sous une lampe ultraviolette), elles produisent donc la

pyoverdine ainsi que la pyocyanine. De plus, une odeur de la fleur de seringa (jasmin) s'est exhalé des cultures.

La sécrétion de ces deux pigments est caractéristique des bactéries du genre *Pseudomonas*. Ces observations ont fortement orienté le diagnostic et l'identification vers l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* ; seule capable de produire ces deux pigments, les autres *Pseudomonas* synthétisent seulement la pyoverdine (Dworkinet *et al.*, 2006 ; Joffin et Leyral, 2005 ; Singleton, 1999 ; Lotfabad *et al.*, 2009).

La photographie 07 montre les résultats de l'identification de la souche 1 du genre *Bacillus*. Il s'agit d'un bacille Gram positive, catalase +, ONPG+, VP+, RM+, NR+, TSI, mobile, aérobie stricte, elle fermente le mannitol et utilise le citrate de sodium comme source de carbone (Tableau II). La capacité de cette souche à dégrader le mannitol avec l'ONPG positif et TSI Négative nous permet de supposer qu'il s'agit de *Bacillus subtilus* (Singleton, 1999).



**Photographie 07 :** Résultats de la galerie classique de la souche 1 du genre *Bacillus*

La photographie 08 montre les résultats de l'identification de la souche 2 du genre *Bacillus*. Il s'agit d'un bacille Gram positive, catalase +, ONPG+, VP+, RM-, NR+, TSI, immobile, aéroanaérobie facultatif (AAF), elle fermente le mannitol et utilise le citrate de sodium comme source de carbone (**Tableau II**).

La capacité de cette souche à dégrader le mannitol avec l'ONPG positif et TSI négative, nous permet de supposer qu'il s'agit de *Bacillus anthracis*, le seul *Bacillus* immobile.



**Photographie 08** : Résultats de la galerie classique de la souche 2 du genre *Bacillus*

La photographie 09 montre les résultats de l'identification de la souche 3 du genre *Bacillus*. C'est un bacille Gram positive, catalase +, ONPG-, VP-, RM-, NR+, TSI-, mobile, aéroanaérobie facultatif (AAF), elle fermente le mannitol et citrate de sodium négative (**Tableau II**). Cette souche peut être rattachée à l'espèce *Bacillus cereus* vue qu'elle est caractérisée par la formation des spores centrale.



**Photographie 09** : Résultats de la galerie classique de la souche 3 du genre *Bacillus*

## 2. Discussion

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie opportuniste importante, elle vit à l'état saprophytique dans l'eau, le sol et sur les végétaux (Sotirova et al., 2009). Elle est par ailleurs connue par sa capacité à biodégrader les composés hydrocarbonés. En effet, plusieurs chercheurs l'ont isolé à partir des eaux contaminés par les hydrocarbures (Sifour et al., 2007 ; Chabouni, 2008 ; Yin et al., 2009 ; Lotfabad et al., 2009).

Plusieurs travaux ont indiqués que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont la capacité de réduire la tension superficielle à des valeurs minimales et peuvent émulsionner et stabilisent les émulsions de différents types d'hydrocarbures et des huiles comme le pétrole brut, kérosène, n-alkanes, les composés aromatiques, l'huile d'olive et les huiles minérales et le diesel (Patel et Desai, 1997 ; Benincasa et al., 2004 ; Wei et al., 2005). Dans leurs travaux,

WU et *al.* (2008) ont pu produire par *Pseudomonas aeruginosa* 3,70 g/l et 2,63g/l de biosurfactant en utilisant l'huile d'olive et l'huile soja comme source de carbone respectivement. Par ailleurs, Costa et *al.* (2006), Rahman et *al.* (2002) et Haba et *al.* (2000), signalent la production de 2,9 g/l de biosurfactant en présence de l'huile de buriti, de l'huile de carthame et de l'huile de friture respectivement par la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Une souche de *Pseudomonas aeruginosa* isolée à partir d'un sol contaminé par les hydrocarbures peut réduire la tension superficielle du milieu de culture jusqu'à 36 mN/m (Somayeh et *al.*, 2008).

La capacité du genre *Bacillus* à dégradé les hydrocarbures est attribuée à un système enzymatique approprié (Antai, 1990 ; Ijah et Ukpe, 1992). D'autre part, certaines espèces du genre *Bacillus* sont capables d'excréter les biosurfactants tels que Gradisidine S, surfactine, polymyxine et lipopeptides (Rosenberg et Ron, 1999; Ron et Rosenberg, 2001).

Les mêmes résultats ont été obtenus par Banat et *al.* (1991) qui ont pu isoler plusieurs bactéries ayant la capacité de réduire la tension superficielle du milieu de culture à des valeurs inférieures à 40 mN/m. Parmi les quelles, la surfactine produite par *Bacillus subtilis* a la capacité de réduire la tension superficielle de l'eau de 72 mN/m à 30 mN/m.

Bien que de nombreuses espèces produisent des biosurfactants, la régulation de leur synthèse est encore mal connue, sauf pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* qui sont actuellement les bactéries les plus étudiées (Banat et *al.*, 2000).

*Conclusion et  
perspectives*

En conclusion, les résultats obtenus dans ce travail montre que le lac Oubeira constitué un milieu d'exploitation des ressources naturels en terme de micro-organismes. Ainsi, l'identification de quatre souche appartenant aux genres *Pseudomonas* et *Bacillus* ont été identifiées : *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Bacillus anthracis*. Ces dernières ont beaucoup d'application dans le domaine de la bioremédiation : elles peuvent contribuer à l'élimination des polluants.

Les résultats obtenus nous ont ainsi conduis aux perspectives pouvant être réalisées

ultérieurement, en effet, des testes doivent être réalisé pour la sélection des souches pouvons avoir un intérêt d'applications *in situ*. Des prélèvements complémentaires ainsi qu'une identification d'autres germes présents dans cet écosystème peuvent permettre d'avoir des progrès dans la dépollution et préservations des réserves naturelles.

*Références  
bibliographiques*

Abo-Amer and Akrem. E., 2010. Biodegradation of Diazinon by *Serratia marcescens* DI101 and its use in bioremediation of Contaminated Environment. *microbiology and biotechnology*: 71-80.

Abou-Elela, S. I., Kamel, M. M., Blomqvist P., Pettersson A., 2010. Biological treatment of saline wastewater using a salt-tolerant microorganism. *Desalination*: 1-5.

Alayat H., 1991. Les eaux superficielles et la nappe phréatique de la plaine d'Annaba. Th. Doct., Univ. de Nancy II, 382p.

Alexander M., 1994. Biodegradation and bioremediation. Acad Press Inc. San Francisco, Calif.

Allout I., 2013. Etude de la biodiversité floristique de la zone humide de Boukhmira Sidi Salem – El Bouni –Annaba. Mémoire de Magister, Université BADJI Mokhtar – Annaba, 55p.

Amri S., 2008. Dynamique mensuelle du phytoplancton dans le lac Oubeïra et le lac Noir Parc National EL-Kala. Mémoire de magister. Université d'Annaba, 85p.

Amri S., Branes Z. et Oudra B. 2010 : Inventaire des Cyanobactéries potentiellement toxiques dans la tourbière du Lac Noir « Parc National d'El-Kala » (Algérie). *Rev. Microbiol. Ind. San. et Environn.* Vol 4, n°1, p : 49-68.

Anderson D.M., Glibert P.M., Burkholder J.M., 2002. Harmful algal blooms and eutrophication : Nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries*. Vol. 25, p. 704–726.

Anonyme, 2004. Atlas des zones humides algériennes d'importance internationale.

Asano T., 1998. Waste water reclamation and reuse. Water quality management library, 1475p.

Baker K .H., Herson D. S., 1994. Bioremediation of cyanide. Mc Graw Hill Inc. Pub.P71-76.

Banat M., Makkarr R. S. et Cameotra S. S., 2000. Potential commercial applications of microbial surfactants, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 53 : 495-508.

Banat I., Samarah N., Murad M., Horne R., et Benerjee S., 1991. Biosurfactant production and use in oil tank clean-up. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 7: 80–84

Barnaud G., Fustec E., 2007. Conserver les zones humides: pourquoi ? Comment ? Editions Quae 296p.

Bartram I., Carmichael W.W., Chorus I., Jones G., Skulberg OM., 1999. Introduction, p. 1-14, dans I. CHORUS et J. BARTRAM (éd.), Toxic Cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management, London, New York, E & FN Spon.

Baumont S., Camard J.P., Lefranc A., Franconie A., 2004. Réutilisation des eaux usées: risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. Rapport ORS, 220p.

Benincasa M., Abalos A., Oliveira I. et Manresa A., 2004. Chemical structure, surface properties, and biological activities of the biosurfactant produced by

*Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock. *Antonio van Leeuwenhoek*, 85 : 1–8.

Bonche P., 2002. Nitrogen fixation and photosynthetic oxygen evolution. In cyanobacteria. Research. In *Microbiology*, 154 (3), 157-164.

Bouaïcha N., 2002. La ruée vers l'eau en Algérie, Maroc et Tunisie. Université Paris - Sud, UFR de Pharmacie / Laboratoire Santé Publique-Environnement. p. 1- 2.

Bouaïcha N., 2001. Impact sanitaire des toxines de Cyanobactéries en milieu d'eau douce. *Revue française des laboratoires*, N° 836. P. 39-46.

Boumezbeur A., Ameer N. & Bakaria F., 2003. Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar : Reserve Integrale du Lac Oubeira. Wilaya d'El-Tarf, pp 2-5.

Boumezbeur A., 2002. Atlas des 26 zones humides Algériennes d'importance internationale, 63-64, 80-81.

Carpenter S.R., Caraco N.F., Correll D.L., Howarth R.W., Sharpley A.N., Smith V.H., 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecol. Appl.* vol. 8, p. 559–568.

Cazenave A., Nerem S., 2002. Redistributing earth's mass. *Science*, pp. 297,783-784.

Costa S. G. V. A. O., Nitschke M., Haddad R., Eberlin M. N. et Contiero J., 2006. Production of *Pseudomonas aeruginosa* LBI rhamnolipids following growth on Brazilian native oils. *Process Biochemistry*, 41 : 483–488.

CHabouni S., 2008. Essai d'utilisation des souches bactériennes dans la Bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures « pétrole ». *Mémoire de DES Microbiologie. Université Kasdi Merbah Ouargla*. P. 78.

Chedly A., 2006. Bioremédiation / phytoremédiation, Mémoire d'ingénieur d'état. Université d'Annaba p 5.

Cshapf A., 1995. Recommandations sanitaires relatives à la désinfection des eaux usées urbaines, 22p.

El Ouali Lalami A., Merzouki M., El Hillali O., Maniar S., Ibsouda Koraichi S., 2011. Pollution des eaux de surface de la ville de FES.

Faby J.A., Brissaud F., 1997. L'utilisation des eaux usées épurées en irrigation. Office.

Jean Baptiste G. Et Rabel L., 1995. Premier cours national post-graduate sur l'irrigation, le drainage et la gestion des ressources hydriques.

Joffin J. N. et Leyra G., 2005. Microbiologie technique, Tome1 :

Dictionnaire des techniques, 4ème édition. *Edition CRDP d'aquitaine*. P368.

Gadelle F., 1995. Le monde manquera-t-il bientôt d'eau Science et changements planétaires Sécheresse. Vol 6. N° 1. P. 9-14.

Galaf F. S., Ghanna M., 2003. Contribution à l'élaboration d'un manuel et d'un

Site Web sur la pollution du milieu marin. Mémoire d'ingénieur d'état. Université d'Annaba

Gana ., 2013. Diversité comparée de l'avifaune aquatique de marais de Tamelaht et du lac Mézaia (Bejaia), mémoire microbiologique, université de Bejaia. 44p

Genin B., Chauvin C., Menard F., 2003. Cours d'eau et indices biologiques : pollution, méthodes, IBGN ; 2ème édition : 221 p.

Greenblat C. L., Baum J., & Hammond S. J., 2004. *Micrococcus luteus* – Survival in Amber. *Microbial Ecology*: 120-127.

Grindstaff M., 1998. Bioremediation of Chlorinated Solvent Contaminated Groundwater. National Network of Environmental Management Studies. Vol, 78, 584p.

Haba E., Espuny M. J., Busquets M., et Manresa A., 2000. Screening and production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste frying oils. *J. Appl. Microbiol.* 88: 379–387.

Kadouche S., 2013. Utilisation des biometriaux dans le traitement des eaux, Thèse de doctorat, Université Tizi-Ouzou, Algérie, 174p.

King R.B., Long G.M., Sheldon J.K., 1997. Practical environmental bioremediation, the field guide. Lewis (pub.) 184pp.

Khalil H., 2004. Étude de faisabilité de l'utilisation de molécules "cage" dans la dépollution des sols : solubilisation et extraction de polluants organiques par les cyclodextrines, Mémoire d'ingénieur d'états en sciences des mers, pp73, 91-93.

Langevin, J., Lefebvre, R., Toutant, C. 2000. Histoire d'eaux : tout ce qu'il faut Savoir sur l'eau et l'hygiène publique, 2<sup>e</sup> édition, Berger, Canada. p 9-13.

Laouina A., 2010. L'eau au Maroc. Thèse de magistère, Université Mohammed V, Rabat. 55-51p

Lotfabadt. B., S hourianM., Roostaazad., Najafabadia. R., Laurent P., Buchon L., Guespin-Michel J. F. et Orange N., 2009. Production of pectatelyases and cellulases by *Chryseomonas luteola* strain MFCL0 depends on the growth temperature and the nature of the culture medium: evidence for two critical temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 : 1538-1543.

Losi M.E., Amrhein C., et Frankenberger W.T. 1994. Bioremediation of chromate contaminated groundwater by reduction and precipitation in surface soils. *J. Environ. Qual.* 23, 1141-1150

Makhoukh M., Sbaa M., Berrahou A., Van. Clooster M., 2011. Contribution à l'Etude Physico-chimiques des Eaux Superficielles de l'Oued Moulouya (MAROC ORIENTAL). *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, n° 09, Décembre 2011 : pp. 149-169.

Marre A., 1987. Etude géomorphologique du tel oriental Algérien de Collo à la frontière Tunisienne., Université Aix-Marseille II. UER de géographie, 559 p.

MÉDÉ (Ministère de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie), 2012.

Rapport sur Les oiseaux et les homes Des zones humides en partage. 40 p.

Mergeay M., Nies D. & Moore R.E., 1985. *Alcaligenes eutrophus* CH34 is a facultative chemolithotroph with plasmid-bound resistance to heavy metals. *J Bacteriol*: 328-334.

Messerer Y., 1999. Etude morpho-métrique et hydrographique du complexe lacustre d'El-Kala : cas lac Oubeira et lac Mellah. Thèse de magister. Université d'Annaba, 199p.

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), Organisation for Economic Co-Operation and Development Staff, 2008. La performance environnementale de l'agriculture dans les pays de l'OCDE depuis 1999 : 657 p.

Patel R. M. et Desai A. J., 1997. Surface active properties of rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* G3S. *J. Basic Microbiol.*, 37 :281-286.

Planchon, L. S. S., Tuinman A.A., Wessels P.L., 2006. Physiology de la croissance en biofilm de *staphylococcus xylosus* par une approche protéomiques. Université microbiologique de béjaia.

Rahman K. S. M., Rahman T. J., Mcclean S., Marchant R. et Banat I. M., 2002. Rhamnolipid biosurfactant production by strains of *Pseudomonas aeruginosa* using low-cost raw materials. *BiotechnolProg*, 18 : 177-81.

RAMSAR. 2013. Le Manuel de la Convention de Ramsar: Guide de la Convention sur les zones humides (Ramsar, Iran, 1971), 6<sup>e</sup> édition. Secrétariat de la Convention de Ramsar, Gland, Suisse, 6 p.

Redvet A., 2009. Effet d'une pollution thermique et d'une eutrophisation côtière sur la distribution du phytoplancton de la baie de Sousse, Tunisie. *Revista electrónica de Veterinaria*. ISSN: 1695- 7504 Vol. 10, N° 9.

Roger P., Jack V., 2000. Laboratoire de Microbiologie IRD Institut de Recherche pour le Développement IRD.

RON E.Z. et ROSENBERG E., 2000, Biosurfactants and oil remediation. *Current Opinion in Biotechnology*, 3 : 249-252.

Sandrin T. R., Maier R. M., 2003. "Impact of metals on the biodegradation of organic pollutants." *Environ Health Perspect*: 1093-1101.

Sifourm M., AL-Jilawi M. H. et Aziz J. M., 2007. Emulsification properties of biosurfactant produced from *Pseudomonas aeruginosa* RB 28. *Pak. J. Biol. Sci.*, 10 (8) : 1331-1335.

Singleton P., (1999), Bactériologie, *Edition Duonod 4ème édition Paris*. P.415.

Somayeh V., Abbas A. S. et Nouhi A. S., 2008. Study the role of isolated bacteria from oil contaminated soil in bioremediation. *J Bacteriol*, 1365 : 678–707.

Smayda T.J., 1997. "What is a bloom? A commentary" *Limnology and Oceanography*, vol.42, p. 1132-1136.

Smith V.H., Tilman G.D., Nekola J.C., 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environ. Pollut.*, vol. 100, p. 179–196.

Sotirova A., Spasova D., Vasileva-Tonkova E. et Galabova D., 2009. Effects of rhamnolipid-biosurfactant on cell surface of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiological Research*, 164 : 297—303

Taghavi S., Mergeay M. & van der Lelie D., 1997. Dynamique mensuelle du phytoplancton dans le lac Oubeïra et le lac Noir Parc National EL-Kala. Mémoire de magister. Université d'Annaba.: 22–34.

Tazi Sadeq H., 2007. Du droit de l'eau au droit à l'eau au Maroc et ailleurs : 473p.

Thill G., Ezin J.P., 2002. L'eau, patrimoine mondial commun: Co-expertise scientifique et participative et gouvernance : 303 p.

UICN (Union internationale pour la conservation de la nature et de ses ressources), 2009. rapport sur Evaluation de l'efficacité de gestion d'un échantillon de sites RAMSAR en Afrique de l'Ouest. 67p.

Van H. E., 2002. Contribution à l'étude du devenir, de la mobilité et de l'impact de Métaux utilisés pour le traitement de plans d'eau eutrophies : cas de l'aluminium et du cuivre. Thèse de Doctorat, Université de Limoges. Faculté des sciences et techniques. 89p.

Wei Y.H., Chou C.L. et Chang, J.S., 2005. Rhamnolipid production by indigenous *Pseudomonas aeruginosa* J4 originating from petrochemical wastewater. *Biochemical Engineering Journal*, 27 : 146–154.

Wu J. Y., Yehk. L., Luw. B., Lin C. L. et Chang J. S., 2008. Rhamnolipid production with indigenous *Pseudomonas aeruginosa* EM1 isolated from oil-contaminated site. *Bioresource Technology*, 99 : 1157–1164.

Yin,H.,Qiang,J.,Jia,Y.,YE,J.,Peng,H.,Qin,H.,Zhang,N.et HE B.,2009.Characteristics of biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* S6 isolated from oil-containing wastewater. *Process Biochemistry* 44 : 302–308.

Zhuang W. Q., Tay J. H., Carpenter S.R., Ludwig D., 2003. Importance of Gram-positive naphthalene-degrading bacteria in oil-contaminated tropical marine sediments. *Lett Appl Microbiol*: 251-270.

Ziagovaa M. G., 2010. Comparative studies on the degradation of three aromatic compounds by *Pseudomonas sp.* And *Staphylococcus xylosus*. *Journal of Environmental Science and Health*: 1017-1025.

Zgheib S., 2009. Flux et Sources des Polluants Prioritaires dans les Eaux Urbaines en lien avec l'Usage du Territoire. Thèse, L'Ecole Nationale des Ponts et Chaussées : 359 p.