



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمّار ثليجي بالأغواط

UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Par :

LACHLEG Nour El Houda

CHIKHAOUI Bouchra

MOKHTARI Oulaya



RECHERCHE DES CYANOBACTERIES ET DES GERMES BACTERIENNES DANS LES EAUX SUPERFICIELLES DE LAGHOUAT



Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mr. BENACEUR FAROUK	MCA	Président	(Univ-Laghouat)
Mr. BOUNOUALA FATIMA ZOHRA	MAB	Examineur	(Univ-Laghouat)
Mr. CHAIBI RACHID	Pr	Encadreur	(Univ-Laghouat)
Mme. REZZOUG ASMA	Doctorante	Co-Promotrice	(Univ-Laghouat)

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Avant tout, nous remercions DIEU qui a illuminé notre chemin, ET nous a donné le courage de réaliser notre ambition.

Nos remerciements vont particulièrement à notre encadreur le professeur CHAIBI Rachid qui s'est engagé à nous suivre durant les différentes parties de notre travail.

Nous remercierons également et sincèrement notre Co-encadreur Madame REZZOUGA Sma pour son soutien, ses conseils et ses encouragements, son suivi Durant la réalisation de cette étude.

Nous remercions Monsieur BENASSEUR Farouk et madame BOUNOUALA Fatima Zohra qui ont bien voulu accepter de juger notre modeste travail.

Nous remercions également et tout particulièrement tous les ingénieurs de laboratoire de biologie

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de cette recherche. Et à tous nos Amis qui nous ont toujours soutenus et encouragés lors de la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Louange à Dieu et remercie Dieu qui m'a aidé à réaliser ce projet

{ يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ }

J'ai le grand plaisir de dédie ce modeste travail:

À la lumière de ma vie et les plus chères au monde, mon père Ibrahime et ma mère Fatma , source intarissable d'amour, de tendresse et de sacrifice. Que Dieu les protège et les entourent de sa bénédiction.

À mes chères frères Hocine, Nasr el din et Mohamed.

À mes chères sœurs Zohra et Meriem leurs enfants

à la femme de mon frère Halima

À toute ma famille

Aux meilleures amies et sœurs que j'ai acquises au cours de ma carrière universitaire avec elles, les meilleurs jours sont passés Nour el houda et Bouchra

À toutes mes amies

À tous ceux qui me sont chers



Oulaya

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail A ;

*Mon père et ma mère sont la source de notre succès et de notre
fierté*

*Pour mes chères sœurs : Khadidja , Roukaya , Zohra , Marwa,
Fatima et leurs enfants .*

A mes chères frères : Tayeub et Djamel et leurs enfants.

À toute ma famille.

Et à ceux qui m'ont toujours soutenu et encouragé : D. Ibrahim

*Aux meilleures amies et sœurs que j'ai acquises au cours de ma
carrière universitaire avec elles, les meilleurs jours sont
passés ;*

Khadidja, Nadjwa , Reem , Houda, fatima , Oulaya et Nour

À toutes les amies

À toutes les personnes qui mes connaissent.



Bouchra

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

ceux qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une éducation digne de confiance, ceux qui ont attendu avec patience les fruits de leur bonne éducation ce sont mes très chers parents,

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, mon adorable mère D. Fatima

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux. en signe de reconnaissance de l'immense bien que vous avez fait pour moi concernant mon éducation qui aboutit aujourd'hui à la réalisation de cette étude.

A mes sœurs Douaa et Samar et mon frère Mehdi, et mon cher fiancé B, Abdelouahed qui n'ont pas cessés de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de cette période.

A mon cher oncle D, Ahmed que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A mes belles trinôme Oulaya et Bochra pour ses patiences, et ses compréhensions tout au long de ce travail.

A mes amis intimes Hasna, Safa, Meriem, Elhadja, Hiba, Saadia, et Bagrinti Zahira

Et à tous ceux qui contribué de près ou de loin pour ce que projet soit possible.

Nour ei houda

Liste des abréviations

CO₂ : Dioxyde de carbone
B12 : Vitamine B12 ou cobalamine
LPS : Lipopolysaccharidiques
µm : Micro mètre.
°C : Degrés celsius.
pH : Potentiel hydrique.
AST : Aspartate aminotransférase
ALT : Alanine aminotransférase
E. coli : *Escherichia coli*
Mg/l : Milligramme par litre
µS : Micro siemens
Cm : Centimètre
UFC : Unité formant colonie
ml : Millilitre
Gr : Grossissement
TGEA : Tryptone glucose extract agar
NPP : Nombre plus probable
BCPL : Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromcrésol
DC : Double concentration
SC : Simple concentration
CTT : Coliforme thermotolérants
GN : Gélose nutritif
NaCl : Chlorure de sodium
API : Analytical profile index
CIT : Citrate
VP : Test de Voges-Proskauer
ADH : Décarboxylation de l'acide aminé arginine
LDC : Décarboxylations de l'acide aminé lysine
TDA : Tryptophane désaminase
IND : Test Indole

ملخص:

تتعلق هذه الدراسة بتحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية لتسع مسطحات مائية (بركة وسد ووادي) داخل ولاية الأغواط خلال الفترة الممتدة من ديسمبر 2020 إلى مارس 2021. تظهر نتائج قياسات المؤشرات الفيزيائية والكيميائية للماء اختلافات كبيرة من موقع إلى آخر. من ناحية أخرى، لا يظهر اختلاف كبير في درجة الحرارة ودرجة الحموضة بين المواقع التسعة التي تم أخذ عينات منها. يُظهر التحليل البكتريولوجي أن الجودة الميكروبيولوجية للمياه التي تم تحليلها غير مقبولة في العينة بسبب وجود الجراثيم المسببة للأمراض (القولونيات الكلية، القولونيات البرازية) ووجود عدد كبير من الجراثيم القابلة للحياة. تظهر نتائج الدراسة النوعية للبكتيريا الزرقاء أنه من الأجناس المحددة، 3 معترف بها على أنها سامة. يتضح من هذه الملاحظات أن الأجناس السامة يتم تمييزها فقط بواسطة *Anabaena sp* و *Oscillatoria sp* و *Aphanizomino sp*.
الكلمات المفتاحية: الأغواط، الوادي، البركة، السد، المياه، البكتيريا الزرقاء، البكتيريا، العوامل الفيزيائية والكيميائية، العوالق النباتية، الطحالب الزرقاء، المسطحات المائية، الكائنات الحية الدقيقة

RESUME :

La présente étude porte sur la détermination des caractéristiques physicochimiques et microbiologiques des neuf plans d'eau douce à différentes profondeurs (de mare, de barrage et d'oued) au sein de la wilaya de Laghouat durant la période d'étude s'étalant de décembre 2020 jusqu'au mars 2021.

Les résultats des mesures des paramètres physicochimiques de l'eau montrent des variations significatives d'un site à l'autre. En revanche la variation de la température et du pH ne présente pas des amplitudes critiques entre les neuf sites échantillonnés.

L'analyse bactériologique montre que la qualité microbiologiques d'eau analysée est non acceptable pour la prélèvement à cause de la présence de germes pathogènes (coliformes totaux, coliformes fécaux) et de nombre élevée de germes revivifiables.

Les résultats de l'étude qualitative des cyanobactéries montrent que sur les genres recensés, trois sont reconnus potentiellement toxiques. Il ressort de ces observations que les genres toxiques sont marqués uniquement par les *Anabaena sp*, *Oscillatoria sp*, *Aphanizomino sp*.

Mots clés : Laghouat, oued, mare, barrage, eau douce, cyanobactéries, bactéries, paramètres physicochimique, phytoplancton, algue bleu, cyanophycée, plans d'eau, micro-organismes.

ABSTRACT :

The present study concerns the determination of the physicochemical and microbiological characteristics of the 9 freshwater bodies at different depths (pond, dam and wadi) within the wilaya of Laghouat during the study period extending from December 2020 until March 2021.

The results of the measurements of the physicochemical parameters of the water show significant variations from one site to another. On the other hand, the variation in temperature and pH does not present critical amplitudes between the 9 sites sampled.

Bacteriological analysis shows that the microbiological quality of the water analyzed is not acceptable for sampling because of the presence of pathogenic germs (total coliforms, fecal coliforms) and of a high number of revivable germs.

The results of the qualitative study of cyanobacteria show that of the genera identified, 3 are recognized as potentially toxic. It emerges from these observations that the toxic genera are marked only by *Anabaena* sp, *Oscillatoria* sp, *Aphanizominon* sp.

Key words: Laghouat, wadi, pond, dam, fresh water, cyanobacteria, bacteria, physicochemical parameters, phytoplankton, blue algae, cyanophyceae, water bodies, microorganisms.

Sommaire

Dédicaces

Remerciements

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : GENERALITES	
I. Le phytoplancton	4
I.1.L'importance du phytoplancton.....	6
I.1.1. Importance écologique	6
I.1.2. Importance industrielle.....	7
I.2.Taxonomie du phytoplancton	8
II. Les cyanobactéries	10
II.1. Classification des cyanobactéries.....	13
II.2. Bioécologie des cyanobactéries.....	15
II.3. Multiplication	15
II.4. Facteurs de prolifération des cyanobactéries	17
II.5. Cyanobactéries et phénomène d'eutrophisation.....	18
II.6. les cyanotoxines et les risques pour la santé humaine et animale	19
II.7. La lutte contre les cyanobactéries.....	21
II.8. Les domaines d'utilisation des cyanobactéries	22
II.9. Qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau	23
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	
I. Présentation de la zone d'étude.....	28
I.1. La wilaya de Laghouat.....	28
I.2. Cadre bioclimatique.....	28
I.3. Description et critères de choix des sites de prélèvement.....	30
II. Méthode de l'étude.....	32
II.1. Echantillonnage.....	32
II.2. Analyses physico-chimiques.....	34
II.3. Identification et dénombrement des cyanobactéries.....	36

II.4. Analyse bactériologique de l'eau.....	38
II. 4.1.Recherche et dénombrement des germes totaux.....	38
II.4.2. Recherche et dénombrement des Coliformes fécaux (<i>E. coli</i>)	40
II.5. Recherche et isolement des germes.....	42
II.5.1. Préparation d'une série de dilution décimale.....	42
II.5.2. Ensemencement sur milieu ordinaire (ensemencement en surface)	43
II.5.3.Purification	43
II.6. Identification	44
II.6.1. Repiquage sur milieu sélectif	45
II.6.2. Etudes des caractères biochimiques	48
RESULTATS ET INTERPRETATIONS	
I.1. Résultat des paramètres physico-chimiques	52
I.2. Résultat de l'étude qualitative et quantitative du peuplement des cyanobactéries.....	55
I.3. Résultats des paramètres physique-chimique et distribution des cyanobactéries de site khneg	61
II. Les paramètres bactériologiques	63
II.1. Résultats de la recherche des coliformes	63
II.2. Résultats de l'étude de la flore microbienne de l'eau	64
II.3. Résultats de l'aspect macroscopique des colonies isolées	65
II.4. Résultats d'aspect microscopique	67
II.5. Résultats de croissance sur les milieux sélectifs	69
II.6. Résultats de test de biodégradation	69
II.7. Résultats des tests biochimiques	70
II.8. La galerie API 20 ^E	71
Conclusion	74
Références.	
Annexes.	

Liste des abréviations

CO₂ : Dioxyde de carbone
B12 : Vitamine B12 ou cobalamine
LPS : Lipopolysaccharidiques
µm : Micro mètre.
°C : Degrés celsius.
pH : Potentiel hydrique.
AST : Aspartate aminotransférase
ALT : Alanine aminotransférase
E. coli : *Escherichia coli*
Mg/l : Milligramme par litre
µS : Micro siemens
Cm : Centimètre
UFC : Unité formant colonie
ml : Millilitre
Gr : Grossissement
TGEA : Tryptone glucose extract agar
NPP : Nombre plus probable
BCPL : Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromcrésol
DC : Double concentration
SC : Simple concentration
CTT : Coliforme thermotolérants
GN : Gélose nutritif
NaCl : Chlorure de sodium
API : Analytical profile index
CIT : Citrate
VP : Test de Voges-Proskauer
ADH : Décarboxylation de l'acide aminé arginine
LDC : Décarboxylations de l'acide aminé lysine
TDA : Tryptophane désaminase
IND : Test Indole

Liste des figures

N°	TITRE	PAGE
01	Exemples de phytoplancton pour différents groupes (classes)	
02	Schéma représentatif d'une chaîne alimentaire aquatique	
03	Distribution des cyanobactéries au sein de l'arbre du vivant	
04	Diversité morphologique-des cyanobactéries	
05	Structure du filament de cyanobactéries	
06	Schéma la reproduction des cyanobactéries	
07	Structure d'une cellule de cyanobactéries	
08	Rivière eutrophisée	
09	Carte de la position géographique et administrative de la wilaya de Laghouat	
10	Variations des précipitations moyennes annuelles de la station de Laghouat (2009-2018).	
11	Variations des températures moyennes annuelles de la station de Laghouat (2009-2018)	
12	Localisation géographiques des sites prospectés	
13	Schéma représentatif d'un filet à plancton	
14	Les étapes suivies pour la technique de sédimentation des cyanobactéries	
15	Schéma représentant les étapes de l'étude qualitative et quantitative des cyanobactéries	
16	Méthode de dénombrement des colonies par compteur de colonie	
17	Schéma représentatif des étapes suivies lors de la recherche et du dénombrement des coliformes totaux	
18	Schéma représentatif d'une série de dilution décimale	
19	Schéma représentatif de la technique de quatre quadrants	
20	Schéma représentatif des étapes de coloration de coloration de Gram	
21	Schéma représentatif de la galerie API 20 E	
22	Inoculation de la galerie API 20 E	

23	Variation de température dans les neufs sites étudiés	
24	Variation de La conductivité (Cond μ S) dans les neufs sites étudiés	
25	Le pH de l'eau dans les neufs sites prospectés	
26	Variation de la matière en suspension de l'eau dans les neufs sites	
27	Observation microscopique de genre <i>Oscillatoria</i> à l'objectif 40	
28	Observation microscopique de genre <i>Pseudoanabaena</i> à l'objectif 40	
29	Observation microscopique de genre <i>Merismopedia</i> à l'objectif 40	
30	Observation microscopique de genre <i>Spirulina</i> à l'objectif 40	
31	Observation microscopique de genre <i>Synéhocystis</i> à l'objectif 40	
32	Observation microscopique de genre <i>Anabaena</i> à l'objectif 40	
33	Observation microscopique de genre <i>Chroccocus</i> à l'objectif 40	
34	Observation microscopique de genre <i>Aphanizominon</i> à l'objectif 40	
35	Histogramme représente l'évolution des quatre paramètres physique-chimique étudiés dans le site Khneg pendant quatre mois.	
36	Distribution des genres de cyanobactérie dans la marre de Khneg pendant quatre moi.	
37	Résultats de test présomptif et confirmatif de coliforme totaux	
38	Aspect macroscopique des souches isolées dans milieu ordinaire	
39	Résultat de culture sur milieux sélectifs Chapman, King A et B	
40	Résultat de test de biodégradation de phénol	
41	Résultat obtenu après 24h d'inoculation de la Galerie API 20 E (souche 1)	
42	Résultat obtenu après 24h d'inoculation de la Galerie API 20 E (souche 2).	

Liste des tableaux

N°	TITRE	PAGE
01	Les principales classes phytoplanctoniques, ainsi leurs propriétés	
02	Les différents cellules des cyanobactéries	
03	Classification des cyanobactéries	
04	Les genres des cyanobactéries et leurs toxines avec les signes clinique	
05	Caractérisations géographiques des sites étudiés	
06	Conservateur et délai de conservation pour les deux prélèvements	
07	Appareillages et méthodes d'analyse et de mesures des différents Paramètres physico-chimiques de l'eau	
08	Paramètres physicochimiques de l'eau mesurés dans les six sites prospectés	
09	Caractérisation de 3 milieux sélectif utilisé pour identification	
10	Méthode d'analyse les enzymes respiratoire	
11	Fiche technique des paramètres physique-chimique et de la disruption des cyanobactéries dans les neufs sites étudiées	
12	Les paramètres physique-chimique et l'identification des cyanobactéries dans le site de Khneg pendant 4 mois.	
13	Résultats du dénombrement de la microflore de l'eau analysée	
14	Dénombrement les colonies isolées dans milieu ordinaire	
15	Regroupe les résultats de l'examen macroscopique des différentes colonies isolées à partir de l'eau étudiée	
16	Résultat de coloration de Gram de 6 souches étudiées (S : souche)	
17	Résultats et interprétation de 20 test biochimique de la galerie API 20 E et les enzymes respiratoire de les deux souches étudiés	

Introduction

Introduction :

Un écosystème aquatique est un ensemble d'organismes interdépendants qui dépendent également de leur milieu aquatique pour les éléments nutritifs qui s'y trouvent comme l'azote et le phosphore et l'abri qu'il leur procure. Les étangs, les lacs et les cours d'eau constituent des exemples familiers d'écosystèmes aquatiques, toutefois, ceux-ci englobent également des zones, telles que des plaines d'inondation et des terres humides, qu'elles soient inondées toute l'année ou seulement pendant certaines périodes. Des écosystèmes apparemment hostiles peuvent entretenir la vie (**Jacquet et al., 2003**).

Les écosystèmes aquatiques renferment habituellement une grande variété de formes de vie, notamment les bactéries, les algues et les protozoaires, les plantes microscopiques vivant en suspension dans l'eau et connus sous le nom de phytoplancton qui on a récemment démontré qu'ils jouent un rôle important dans les cycles des éléments nutritifs et de l'énergie (**Christofersen 1996**).

Les proliférations de phytoplanctons, impact majeur sur la qualité de l'eau et surtout le fonctionnement des écosystèmes aquatique. Elles conduisent tout d'abord à un déséquilibre dans les écosystèmes aquatiques via une perte de diversité dans la communauté phytoplanctonique qui est alors dominée par une ou un nombre restreint d'espèces ou également et une accumulation des cyanotoxines produites par les cyanobactéries (**Jacquet et al., 2003**). Les cas d'empoisonnement interviennent au moment de la prolifération des cyanobactéries et le risque devient important lorsque les blooms sont concentrés à la surface de l'eau au niveau des berges ou ils s'accumulent (**Christofersen 1996, Carmichel et al. 1993, Codd et al.1997**).

Les cyanobactéries sont des procaryotes placés dans le règne des Eubactéries (**Woese, 1994**). Le diamètre de ces procaryotes varie d'environ 1 à 10 μm (**Duy et al, 2000**), elles peuvent être unicellulaires, filamenteuses formant des trichomes ou en colonies (**Prescott et al., 1995 ; Chorus et Bartram, 1999**). Les cyanobactéries utilisé dans le programme de surveillance de l'eau pour déclarer l'état de santé d'un écosystème, La croissance algale est favorisée par des caractéristiques optimales particulières (Température, pH, ensoleillement, nutriments... etc.). La toxicité du phytoplancton est un problème dont l'importance est grandissante dans le monde. En fait, il semble que les efflorescences toxiques soient de plus en plus fréquentes et associées à l'eutrophisation qui dépend de la géomorphologie et l'hydrodynamisme (profondeur et mélange des couches d'eaux, taux de renouvellement des eaux, les bassins versants des grands fleuves, le volume d'eau, et les apports d'eau

douce (apports fluviaux et précipitation) des facteurs physico-chimiques (oxygène dissous, température, lumière, turbidité et pH) et également l'enrichissement des eaux en nutriments essentiellement le phosphore et l'azote qui vont favoriser la croissance algale (**Lacaze, 1996**).

Les cyanotoxines peut modifier les réseaux trophiques et perturber le fonctionnement de l'ensemble de l'écosystème. Ils ont également des impacts sur les paramètres physico-chimiques de l'eau (**Anderson, 1997**). L'eau est une ressource vitale renouvelable, elle participe aux cycles de vie des êtres vivants, La problématique de l'eau est une question de qualité, Une eau de bonne qualité physico chimique et biologique est nécessaire, pour la protection sanitaire du consommateur et du réseau de distribution (**OMS, 2000**).

Ce constat nous a conduits à faire une étude analytique sur la qualité des eaux dans plusieurs stations dans la wilaya de Laghouat qui constitue une part essentielle du patrimoine naturel. Notons que les eaux de ces sources ont des effets à la fois sur la santé humaine lors des loisirs aquatiques, ou lorsque l'eau est consommée par les animaux, Ou même en arrosant les cultures agricoles avec cette eau.

La présente étude s'inscrit dans le cadre de l'élaboration d'un programme de surveillance de l'eau superficielles par l'utilisation des micro-organismes telle que les cyanobactéries et les bactéries comme des bio indicateurs, notre mémoire use à :

- ❖ Élaboration d'un fiche technique caractéristiques des différentes paramètres physico-chimique des plans d'eau dans neufs stations dans la wilaya de Laghouat.
- ❖ De réaliser un inventaire taxonomique de différents genres de cyanobactéries et de faire ressortir les formes potentiellement toxiques.
- ❖ Déterminer la qualité bactériologique des eaux par la recherche des différents germes.

En tenant en compte de cet objectif, le manuscrit s'organise de la manière suivante :

- ✓ **Premier chapitre** : c'est une synthèse bibliographique sur Les phytoplanctons et ses classifications et caractéristiques et les cyanobactéries, leurs classifications , caractéristiques et les toxines produites par ces microorganismes .
- ✓ **Deuxième chapitre** : c'est consacré à la présentation des sites d'étude et des méthodes utilisées pour répondre aux objectifs de mémoire.
- ✓ **Troisième chapitre** : Les résultats et discussion sont ensuite présentés sous forme d'un autre chapitre Et enfin une conclusion et perspective.

Chapitre I

Généralités

I. Généralités

On appelle micro algue ou plancton végétal, ou phytoplancton (du grec python : plante et planktos : errant), rassemble les organismes aquatiques flottant librement (**Prescott et al. 1995**). Il est constitué d'un ensemble hétérogène de micro-algues unicellulaires pouvant être solitaires ou groupées en colonies (**Stickney et al. 2000**), leur forme est extrêmement variée. La taille des cellules phytoplanctonique varie de quelques microns jusqu'à quelques centaines de microns. Caractérisé par la présence de pigments chlorophylliens majoritairement la chlorophylle a, Il comprend des milliers d'espèces se répartissant en plusieurs groupes (classes) : diatomées, algues bleues ou Cyanobactéries, Chlorophycées, Les Euglénophycées, Dinophycées et Xanthophycées, (**Zeitzschel, 1978**) (**fig.1**).

L'organisation générale de phytoplanctons s'effectuée en deux catégories en se basant sur un caractère cytologique, à savoir la présence ou l'absence de noyau, Les individus qui en sont pourvus sont classés sous le nom d'eucaryotes ou algues vraies, ceux qui en sont dépourvus sous le nom de procaryotes regroupe uniquement les cyanobactéries (**Coute et Chauveau, 1994**).

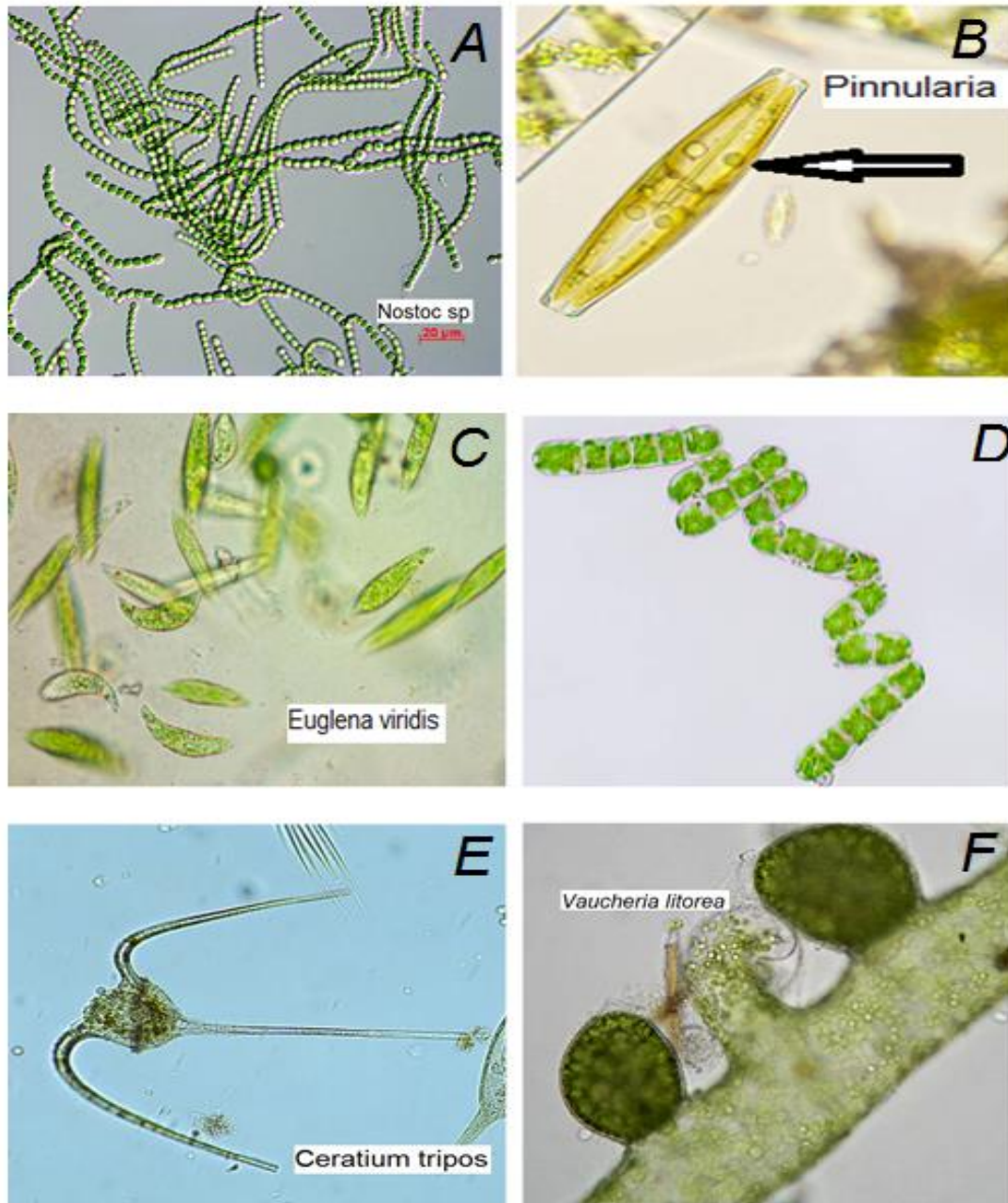


Figure 1 : Exemples de phytoplancton pour différents groupes (classes), successivement : A : Les cyanobactéries (ou Cyanophycées), B : Les Diatomophycées (ou Bacillariophycées), C : Les Euglénophycées, Les Chlorophycées (ou algues vertes), E : Dinophycées et F : et xanthophycées (www.istockphoto.com)

I.1. Importance du phytoplancton :

Le phytoplancton possède d'importants rôles, dont les plus connus sont :

I.1.1. Importance écologique :

○ Photosynthétique

L'importance du phytoplancton dans les milieux aquatiques est due à leur capacité de fabriquer leur substance à partir du gaz carbonique (CO₂) et des composés minéraux (azote, phosphates, potassium, fer, silice...) dissous dans l'eau. Pour cela, elles utilisent l'énergie de la lumière qu'elles captent grâce à la chlorophylle contenue dans leur cellule (Pierre et al., 2013).

○ Chaîne alimentaire

Le phytoplancton occupe la place du premier maillon dans la chaîne alimentaire c'est à dire situé à la base de la chaîne trophique pélagique. De ce fait il conditionne la production de poissons, de moules, d'huîtres, de crevettes et d'autres produits (Hansen et al. 2001)

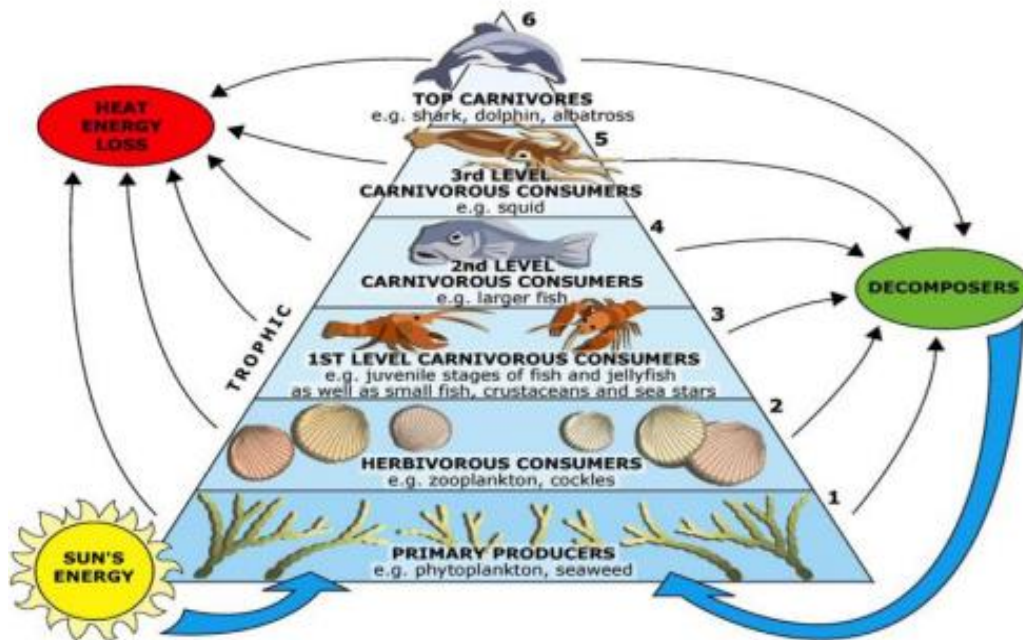


Figure 2. Schéma représentatif d'une chaîne alimentaire aquatique.

I.1.2. Importance industrielles :

○ Pharmaceutique

Spirulines est une Cyanobactérie qui possède des qualités intéressantes pour l'alimentation et la santé, tant pour l'Homme que pour les animaux car elle est riche en protéine et en vitamine B12 (**Rafiqul et al. 2005**). La spiruline est commercialisée comme une denrée alimentaire, sous forme de poudre ou de compléments alimentaires, sous forme de gélules ou de comprimés, exemple : spiruline bio

○ Cosmétique

Les extraits d'algues sont régulièrement utilisés dans des crèmes cosmétologiques. Certaines molécules d'origine algale sont même utilisées en tant qu'excipient dans l'élaboration de produits dermatologiques (alginates). A cet effet, des extraits d'algues, ayant une activité antioxydant, sont exploités sur le marché dans la fabrication des produits de soin capillaire, du visage et de la peau ainsi que dans les crèmes solaires (**Filali, 2012**).

À titre d'exemple, la dermochlorine extraite de la micro algue *Chlorellavulgaris*, permet de densifier et protéger le collagène et l'élastine du visage. Ce produit améliore par ailleurs la régénération des cellules du derme, le rendant incontournable dans les produits cosmétiques anti-rides (**Pierre,2010**).

○ Indicateurs de pollution

Certaines espèces du phytoplancton, peuvent être utilisées comme des indicateurs de pollution, ainsi *Chamaesiphonpolonius* et *Calothris sp* sont caractéristiques des eaux non polluées, par contre *Oscillatoriachlorina* et *Spirulinajenneri* peuvent survivre dans les milieux très pollués et pauvres en oxygène. Cependant *Phormidium sp* est présent dans les eaux moyennement polluées (**Champiat et Larpent, 1994**).

○ Utilisés comme engrais naturels

Certains genres des Cyanobactéries peuvent être utilisés comme engrais naturels dans les rizières grâce à leurs capacités de fixation de l'azote atmosphérique par des hétérocystes (**Roger, 1996**). Le phytoplancton est connu pour libérer dans le milieu des substances antibactériennes (**Barnabé et al .1997**). Dans ce cas, certaines espèces appartenant aux genres *Scenedesmus* et *Chlorelles*, ont un effet inhibiteur sur *Bacillus cereus* et *Pseudomonas sp*,

tandis que d'autres espèces présentent un effet biocide marqué vis à vis des Coliformes et des Salmonelles (**Champiat et Larpent, 1994**).

I.2. Taxonomie du phytoplancton :

A ce jour, la taxonomie du phytoplancton reste comme un sujet de débat entre les spécialistes ; le nombre de classes et les catégories des espèces intégrées sont les principaux soucis. Actuellement, entre 6 et 11 classes sont accordées par les spécialistes **Angelli (1980)**, **Person, (2010)**, **Pierre (2001)** et de **Riviers (2003)**. Le classement en divisions est basé sur diverses propriétés telles que la pigmentation, la nature chimique des produits de stockage issus de la photosynthèse, l'organisation des membranes photosynthétiques et d'autres caractéristiques morphologiques (**Person, 2010**).

Tableau01 : Les principales classes phytoplanctoniques, ainsi leurs propriétés

Classe	Nombre des espèces	Les principales espèces et leurs propriétés
Les Chlorophycées (ou algues vertes)	Environ 500 genres Environ 15 000 espèces John, (1994).	- <i>Chlorococcales</i> : se développer en anaérobiose en fermentant les sucres tels que le glucose. - <i>Zynematales</i> : Ils caractérisent des eaux riches en acides humiques, acides organiques, fer et en chrome. - <i>Volvocales</i> : ont une préférence marquée pour les eaux riches en azote, particulièrement l'ammoniac et les nitrates, et en substances organiques donc douées d'une grande souplesse quant à leur métabolisme Angelli (2003).
Les Dinophycées	Environ 300 espèces Groga, (2012).	Le genre <i>Dinophysis</i> contient des toxines diarrhéiques alors que le genre <i>Alexandrium</i> est réputé pour ses toxines paralysantes, voire mortelles à fortes bioconcentration par les moules de culture. Les <i>Dinophycées</i> constituent le deuxième plus important producteur primaire après les <i>Diatomophycées</i> en eaux côtières Margalef (1984)
Les Englénophycées	13 genres et plus de 2000 espèces. Rosowski, (2003).	
Les Diatomophycées (Bacillariophycées).		-indicateurs stratigraphiques en exploration pétrolière, -bioindicateurs de la qualité des eaux douces -il existe peu d'espèces à l'exception du genre <i>Pseudonitzshia</i> , Très dangereuse qui contient un acide domoïque à l'origine de mortalité. Angelli (2003)
Xanthophycées	100 genres et environ 600 espèces (Groga, 2012)	
Les Cyanophycées (Cyanobactéries)	Plus de 110 genres et environ 1000 espèces Bourrelly, 1985a)	-sont capables de métaboliser l'azote atmosphérique grâce à l'existence de cellules spécialisées « les hétérocystes ». -Parmi les nuisances la production de toxines. Peuvent porter atteinte à la santé des usagers des milieux aquatiques. il est Trois catégories de toxines : -Les endotoxines du type lipopolysaccharidiques (LPS). -Les hépatotoxines (toxiques pour le foie). -Les neurotoxines (agissant sur l'influx nerveux). Vaquer et al (1997),

II) les cyanobactéries :

Les cyanobactéries ou cyanophytes, ou encore algues bleues, Ces microorganismes appartiennent au règne des bactéries dans l'arbre du vivant (**Fig. 3**). Ce sont des organismes phylogénétiquement anciens, de type procaryotes Gram négatifs, vivant dans un large éventail d'écosystèmes (**Whitton ,2012**), Parmi eux les milieux aquatiques marins, saumâtres et dulçaquicoles et en milieu dulçaquicole et surtout dans les zones soumises à une forte eutrophisation. (**Cecile ,2014**)

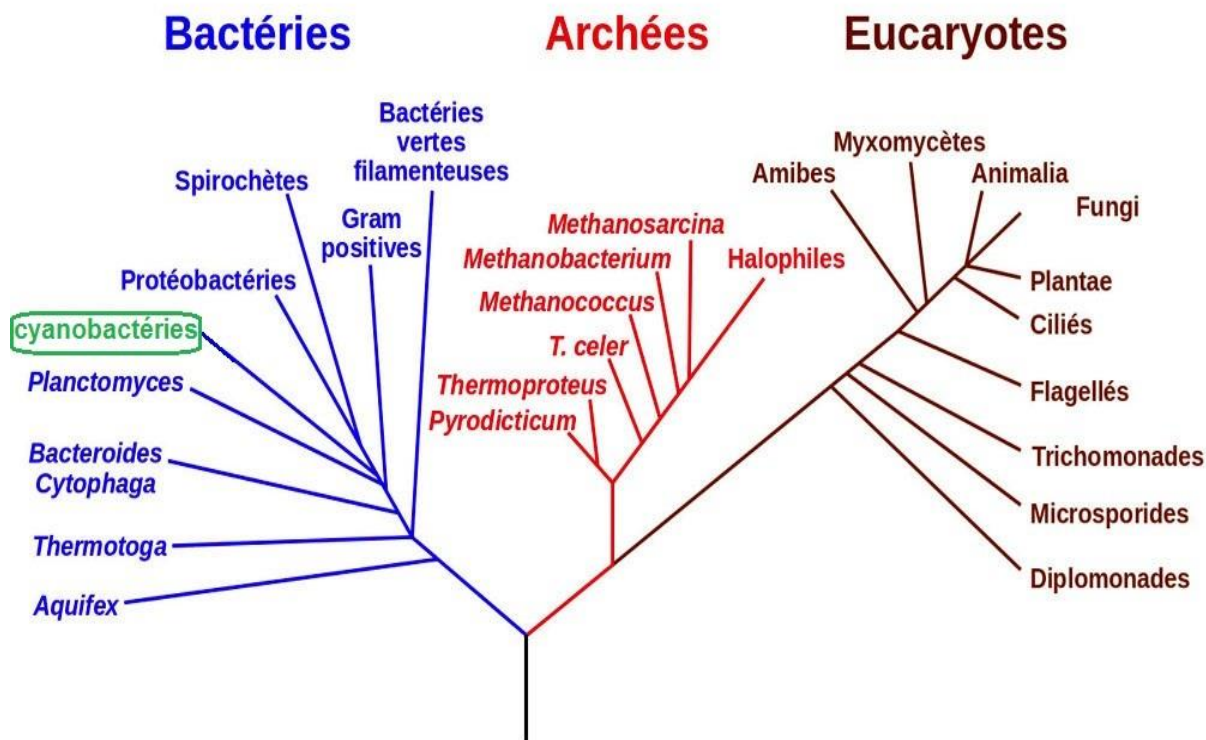


Figure 3 : Distribution des cyanobactéries au sein de l'arbre du vivant.

(www.planet-terre.ens-lyon.fr)

Morphologiquement et cytologique, les cyanobactéries sont très diverses allant des petites (formant le picoplancton, dont la taille est inférieure à 2-3 μm), jusqu'aux formes de plus grandes tailles, plus des formes unicellulaires et filamenteuses qui peuvent être elles mêmes isolées ou coloniales (**Fig. 4**) (**Cecile ,2014**)

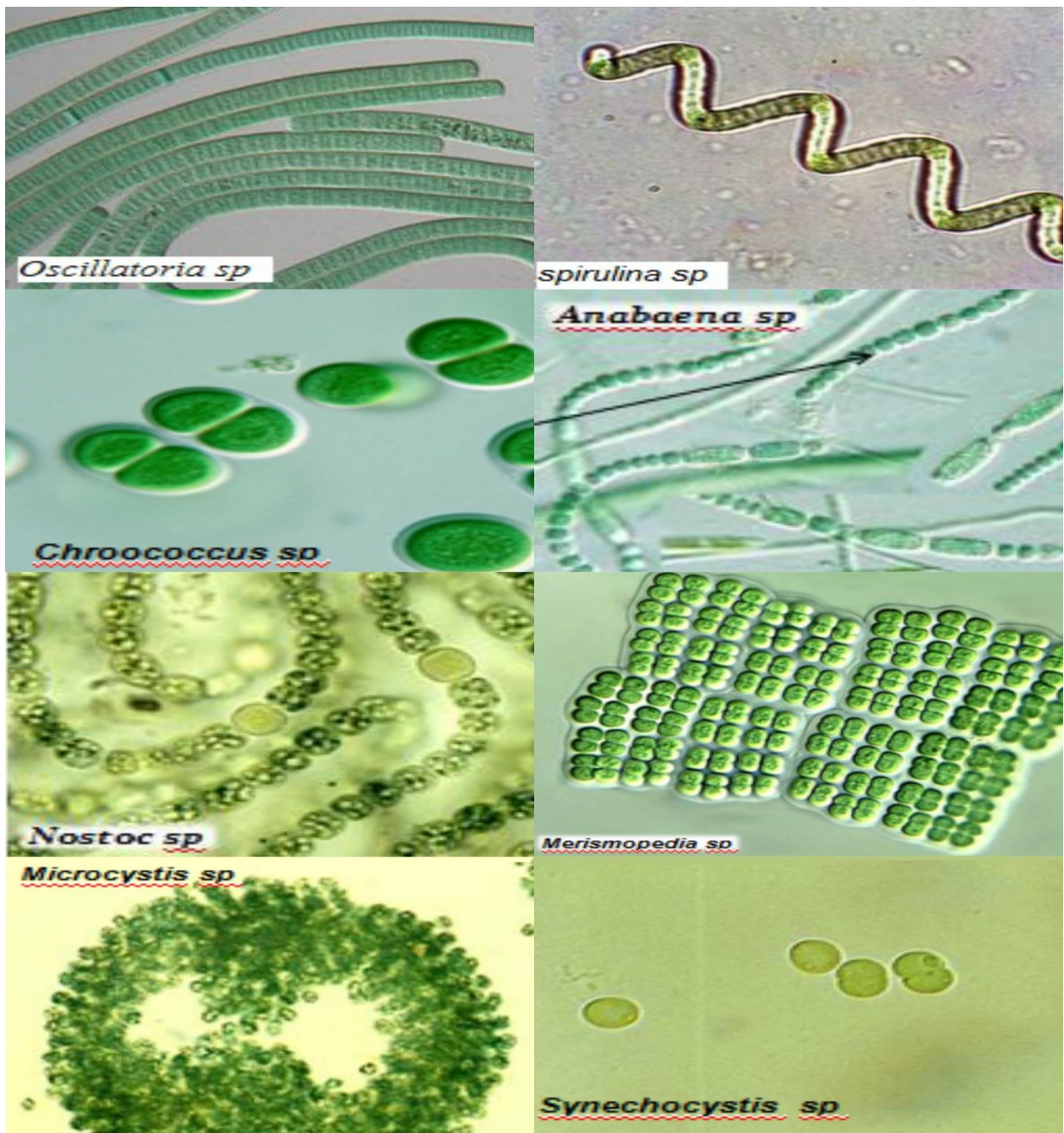
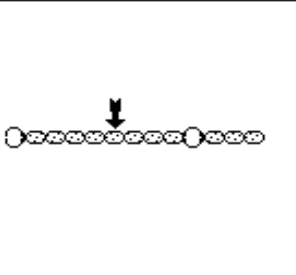
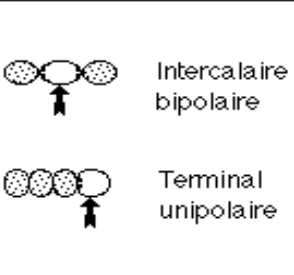
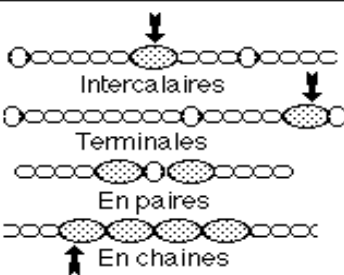


Figure 4 : Diversité morphologique des cyanobactéries (slideplayer.fr)

Au maximum de leur complexité, les formes filamenteuses présentent trois sortes de cellules :

- Les cellules végétatives ; responsables de l'activité photosynthétique et de la nutrition carbonée de l'organisme
- Les hétérocystes cellules spécialisées responsables de l'activité fixatrice d'azote et de la nutrition azotée de l'organisme
- Les spores ou akinètes, organes de conservation et de dissémination. (Tab 2)

Tableau 2 : Les différentes cellules des cyanobactéries

Cellules végétatives	Hétérocystes	Spores ou Akinètes
Activité photosynthétique	Fixation de l'azote	Conservation Dissémination
	 <p>Intercalaire bipolaire</p> <p>Terminal unipolaire</p>	 <p>Intercalaires</p> <p>Terminales</p> <p>En paires</p> <p>En chaînes</p>

En plus de ces trois types de cellules les Cyanobactéries peuvent présenter un certain nombre de structures telles que des gaines mucilagineuses, des ramifications, etc. Chez les formes filamenteuses on appelle trichome la file de cellules et filament l'ensemble du trichome et de la gaine mucilagineuse entourant le trichome lorsqu'une gaine est formée. (Fig5). La gaine mucilagineuse peut réunir de nombreux filaments et former des colonies de forme indéfinie ou définie. Suivant leur taille on peut distinguer de micro (< 1mm) et des macro-colonies. (Roger, 2016)

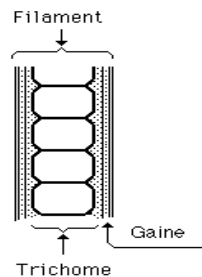


Figure 5 :Structure du filament decyanobactéries (Roger ,2016)

Les caractéristiques communes aux cyanobactéries et aux bactéries sont :

- 1) L'absence de membranes nucléaire et plastidiale, de mitochondries, de réticulum endoplasmique et de dictyosome
- 2) La présence d'une paroi cellulaire caractéristique des bactéries Gram- comprenant de la muréine (Fay et al ,1987).

Comme les microalgues eucaryotes, les cyanobactéries possèdent de la chlorophylle a et deux photosystèmes (les photosystèmes I et II). Elles utilisent l'eau comme donneur d'électrons et font une photosynthèse productrice d'oxygène. (Fig 6). (Cecile ,2014)

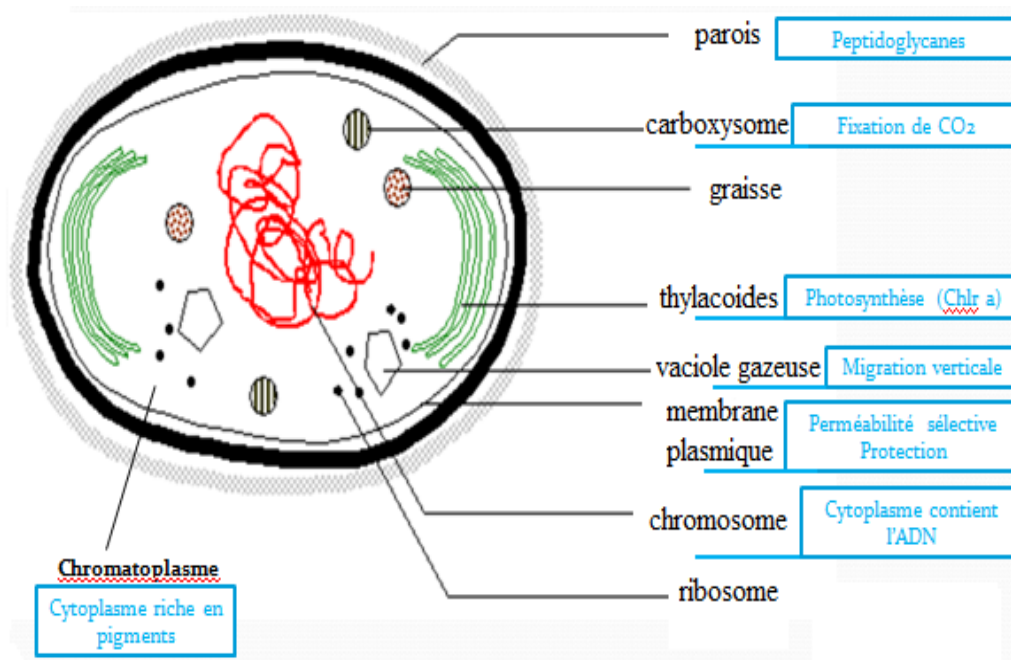


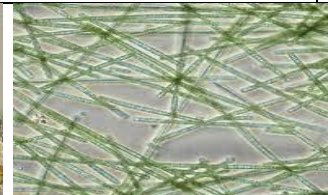




Figure 6 : structure d'une cellule de cyanobactéries (www.slideplayer.fr)

I.1. Classification des cyanobactéries :

La classification des cyanobactéries est basée sur la morphologie des cellules, la présence d'enveloppes ou de gaines, (Tab 3)

Tableau 3 : Classification des cyanobactéries

Sous-classes	Les Coccogonophycidées			Les Hormogonophycidées	
	Order	<i>Chlorococcales</i>	<i>Pleurocapsales</i>	<i>Oscillatoriales</i>	<i>Nostocales</i>
Genre	- <i>Chamaesiphon</i> - <i>Gloeabacter</i> <i>Synechococcus</i> - <i>Glocothece</i> <i>Cyanothece</i> <i>Gloecocapsa</i> <i>Synechoexstis</i>	- <i>Dermocarpa</i> - <i>Xenococcus</i> - <i>Dermocarpella</i> - <i>Myxosarcina</i> - <i>Chroococciopsis</i> <i>Pleurocapsa</i>	- <i>Spirulina</i> - <i>Arthrospira</i> - <i>Oscillatoria</i> - <i>Lyngbya</i> - <i>Pseudanabaena</i> - <i>Starrria</i> - <i>Crinalium</i> - <i>Microcoleus</i>	- <i>Anabaena</i> - <i>Aphanizomenon</i> - <i>Nodularia</i> - <i>Cylindrospermum</i> - <i>Nostoc</i> - <i>Scytonema</i> - <i>Calothrix</i>	- <i>Chlorogloecopsis</i> - <i>Fischerella</i> - <i>Stigonema</i> - <i>Geitleria</i>
Description	Formes coloniales. Multiplication par division.	unicellulaire d'eau douce , ayant quatre familles , reproduit par fission multiple	Formes filamenteuses unisériées, sans différenciation cellulaire (Hétérocystes et akinètes), sans ramification, avec une division cellulaire perpendiculaire à l'axe du filament	Formes filamenteuses avec différenciation cellulaire (Hétérocystes et akinètes). Division cellulaire en un seul plan.	Formes filamenteuses avec différenciation cellulaire (Hétérocystes et akinètes), et des ramifications (vraies ou fausses) et une division cellulaire en plusieurs plans
Photo					

II.2. Bio écologie des cyanobactéries :

Les cyanobactéries se trouvent dans les environnements les plus courants : dans les eaux douces (principalement les lacs), sur les côtes, dans les mers, dans l'air, sur les sols humides et même dans les roches, ils sont également capables de s'imposer au sein de milieux aux conditions plus extrêmes (Chaleur et froid) (**Castenholz, 2001**).

, ou encore dans des lacs à salinité élevée ou même hypersalins (**Dillon, 2009**). C'est leur capacité à résister à la dessiccation qui leur permet de croître dans ces milieux (**Castenholz, 2001**).

II.3. Multiplication :

La multiplication des cyanobactéries est asexuée. Celle-ci s'effectue par :

- **Scissiparité** : c'est une division binaire
- **Les Spores** : unicellulaire (coccospores) qui peuvent être des endospores forme à l'intérieur des cellules végétatives dont le cytoplasme se divise et dont la paroi devient l'enveloppe du sporocyste, ou des exospores se formant par une succession des divisions transversales qui bourgeonnent en spores ou peuvent rester attachées en chapelet. (**Fig 7**). (**Fsnv.univ-setif.dz**)

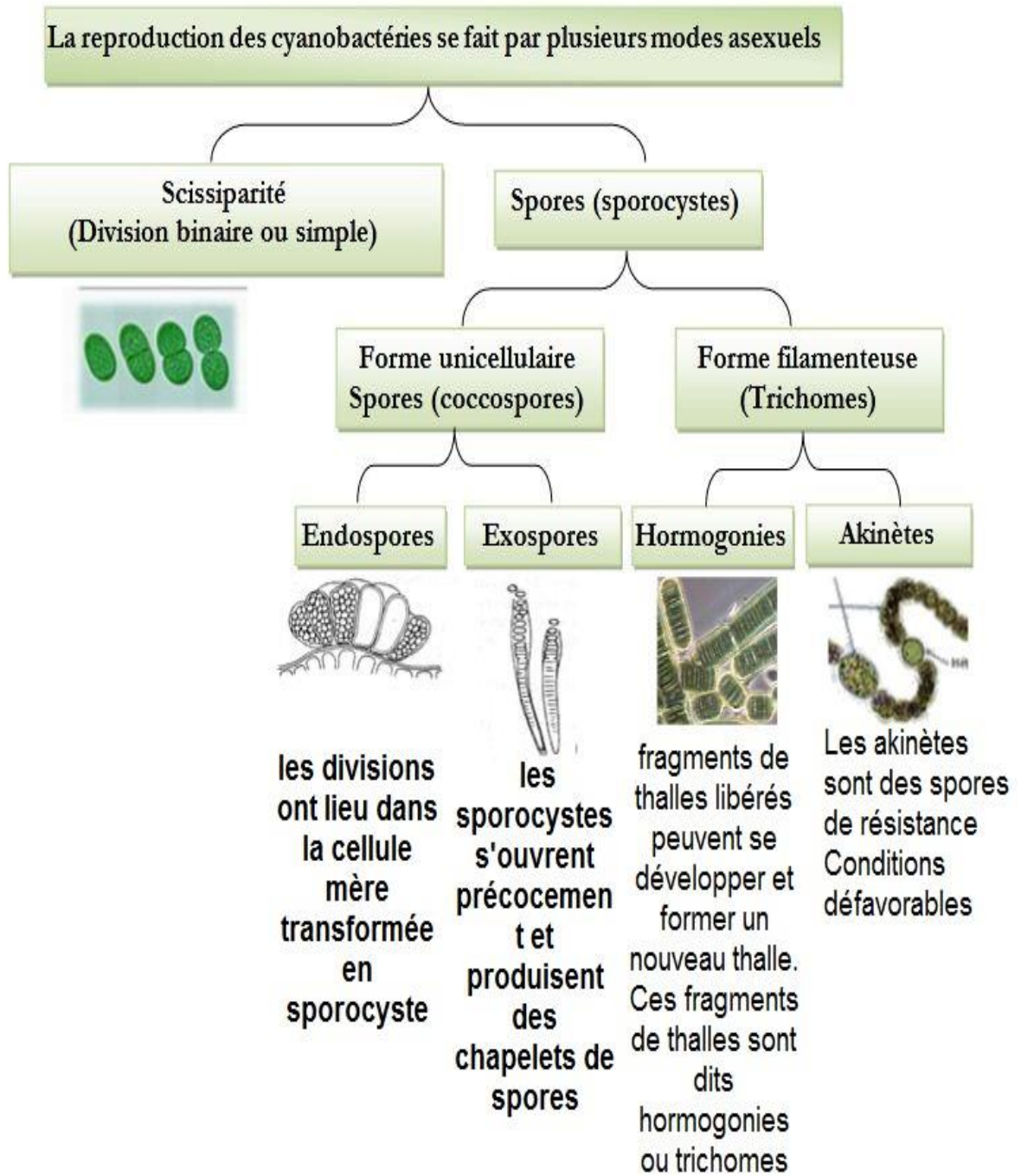


Figure 7 : Schéma la reproduction des cyanobactéries (fsnv.univ-setif.dz)

II.4. Facteurs de prolifération des cyanobactéries :

○ La Température :

Les cyanobactéries prolifèrent à une température, comprise entre 15°C et 30°C, sachant que les cyanobactéries possèdent un optimum de croissance à des températures élevées (autour de 25°C), bien qu'elles soient capables de tolérer et de survivre à des températures bien plus basses. (**Amrani ,2016**)

○ La Lumière :

Ces micro-organismes croissent mieux en présence d'une lumière d'intensité modérée bien qu'ils puissent tolérer des niveaux faibles de lumière, Alors que la forte luminosité d'été étant habituellement photo-inhibitrice (**Carmichael et al, 2001 ; Mur et al., 1999**).

○ Le pH :

L'augmentation de la biomasse relative des Cyanophytes et des Chlorophytes est favorisée par des pH acides (**Amrani ,2016**). En revanche, un pH entre 6 et 9 avec des concentrations assez importantes en azote, une bonne oxygénation et une intensité lumineuse pas très forte et une faible profondeur favorisent le développement des cyanobactéries (**Bote, 1984**).

○ La turbidité :

C'est la réduction de la transparence d'un liquide due à la présence de matières non dissoutes, présente-t-elle aussi un facteur limitant de cette prolifération microbienne (**Amrani ,2016**).

○ L'Oxygène dissous :

Les périodes de fortes densités phytoplanctoniques ne sont pas associées à une saturation en oxygène quelle que soit la station (**Oudara et al. 2001**)

○ Sels nutritifs :

- La présence de phosphore est essentielle pour la croissance et la prolifération des cyanobactéries, ils l'utilisent sous forme d'orthophosphates, le phosphore est identifié comme étant la substance critique puisqu'il est habituellement, l'élément limitant en milieu aquatique dulcicole (**Prairie et al , 1999**).
- Les cyanobactéries ont une préférence pour l'azote sous forme d'ammonium (**Blomqvist et al., 1994**).

5. Cyanobactéries et phénomène d'eutrophisation :

L'eutrophisation du grec ancien : eu « bien », et de trophe « nourriture », c'est le processus par lequel des nutriments s'accumulent dans un milieu ou un habitat (terrestre ou aquatique) (Smit *al.*1999)

Ce phénomène naturel est considéré comme une conséquence de l'enrichissement excessif des eaux en sels nutritifs (essentiellement le phosphore et l'azote) (Barnabé et *al.*1997). C'est un processus naturel très lent, par lequel les plants d'eau reçoivent une grande quantité d'éléments nutritifs (notamment du phosphore et de l'azote), ce qui stimule la croissance des algues et des plantes aquatiques, se déroule normalement sur une période allant de plusieurs milliers à quelques dizaines de milliers d'années. Cependant, les activités humaines l'ont accéléré dans de nombreux lacs en augmentant la quantité d'éléments nutritifs qui leur proviennent, provoquant des changements dans l'équilibre de ces écosystèmes aquatiques. (Fig 8).(Walter et *al.*2000).



Figure 8 : Rivière eutrophisée (www.hmf.enseeiht.fr)

II.6. Les cyanotoxines et les risques pour la santé humaine et animale :**➤ Les cyanotoxines :**

Les cyanobactéries se sont des microorganismes potentiellement toxiques c'est-à-dire l'espèce elle est n'est pas toxique lorsque les conditions de son microclimat ne sont pas encore réunies d'un autre côté, il est capable de secrétés certaines formes de des cyanotoxines qui sont pouvant être mortelles pour l'homme ou l'animal. (**Chorus et al 1999**)

Actuellement, vingt genres et plus de quarante espèces sont connus pour synthétiser des toxines (**Berger, 2005**). Trois grandes familles des cyanotoxines sont été classés en fonction de leurs pathogénietées (**Tab 4**)

Tableau 4 : Les genres des cyanobactéries et leurs toxines avec les signes cliniques

Groupe	Toxins	Genres	Signes cliniques
Neurotoxine	Anatoxines	<i>Dolichospermum</i> (anc. <i>Anabaena</i>), <i>Anabaenopsis</i> , <i>Aphanizomenon</i> (incluant <i>Cuspidothrix</i>), <i>Cylindrospermum</i> , <i>Hydrocoleum</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Woronichinia</i>	maux de tête, perte d'appétit, somnolence, troubles du sommeil, irritabilité accrue, dépression, anxiété, troubles d'apprentissage, de la concentration, de la mémoire, de l'élocution, les atteintes motrices telles que faiblesse, tremblements, incoordination, convulsions, les atteintes sensorielles telles que diminution de l'audition, vision des couleurs, acouphènes, pertes d'équilibre .
	Saxitoxines	<i>Dolichospermum</i> (anc. <i>Anabaena</i>), <i>Aphanizomenon</i> (incluant <i>Cuspidothrix</i>), <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Limnothrix</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Phormidium</i> / <i>Geitlerinema</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Scytonema</i>	
Hépatotoxine	Microcystines	<i>Dolichospermum</i> (anc. <i>Anabaena</i>), <i>Anabaenopsis</i> , <i>Annamia</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Arthrospira</i> , <i>Calothrix</i> , <i>Fischerella</i> , <i>Geitlerinema</i> , <i>Gomphosphaeria</i> , <i>Hapalosiphon</i> , <i>Leptolyngbya</i> , <i>Limnothrix</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Merismopedia</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Plectonema</i> , <i>Pseudanabaena</i> , <i>Radiocystis</i> , <i>Spirulina</i> , <i>Synechococcus</i> , <i>Woronichinia</i>	Lorsque foie subit une toxicité, généralement les enzymes du foie (AST et ALT) augmentent, nausées et vomissements, diarrhées, selles pâles ou grasses, douleurs abdominales, fatigue, perte d'appétit, jaunisse (peau et yeux jaunes), démangeaisons intenses, urines foncées et douleurs musculaires. augmentation du volume de votre foie
	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Umezakia</i>	<i>Cylindrospermopsis</i>	
	<i>Nodularia</i>	<i>Nodularines</i>	
Dermatotoxines	<i>Lyngbyatoxine-a</i>	<i>Lyngbya</i>	dermatoses et désordres gastriques
	<i>Aplysiatoxine</i>	<i>Lyngbya</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Schizothrix</i> , <i>Symploca</i>	
	<i>Debromoaplysiatoxine</i>	<i>Lyngbya</i>	

➤ **Les voies des contaminations par les cyanobactéries :**

a) Voie orale :

- Le risque de contamination directe pour l'Homme intervient essentiellement par ingestion d'eau contaminée ou par contact.
- Les cyanotoxines engendrent également des problèmes dans les exploitations agricoles ou dans les parcs zoologiques pour les animaux s'abreuvant dans une réserve d'eau contaminée. De plus, le problème de la salubrité des cultures maraîchères a été soulevé lorsque celles-ci sont arrosées avec de l'eau contenant des cyanotoxines (**van Apeldoorn ,2007**) (**Codd et al. 1999**)
- La majorité des eaux de boisson provient de réservoirs d'eau de surface et leur contamination par des cyanobactéries potentiellement toxiques représentent un souci permanent pour les gestionnaires de traitement et de distribution des eaux (**Hoeger et al. 2004**) (**Orr et al.2004**).
- Les cyanobactéries vendues comme compléments alimentaires présenter un risque potentiel pour le consommateur ainsi que l'a démontré une étude récente (**Rellan et al, 2009**)

b) Voie cutanée :

- Les aires de baignade et d'activités nautiques avec des efflorescences à cyanobactéries toxiques représentent le danger majeur pour l'homme. Ce risque est plus élevé pour les enfants qui sont susceptibles d'avaler d'importantes quantités d'eau en nageant ou en jouant (**Afssa, 2006**)
- Il faut également tenir compte des sports nautiques tels que le ski nautique, l'aviron, le canoë, etc. qui produisent des aérosols pouvant contenir des toxines qui sont alors inhalées et sont au contact de la muqueuse des voies aériennes. (**Sivonen, 2000**)

II.7. La lutte contre les cyanobactéries :

Afin de supprimer les algues bleues d'étang, il est nécessaire de réduire le nombre de nutriments présents, d'oxygéner l'eau et d'apporter des bactéries et des enzymes bénéfiques, par trois étapes :

- **Étape n°1** : Ajouter des bactéries et des enzymes bénéfiques

L'ajout de bactéries et d'enzymes bénéfiques dans plan d'eau va permettre de décomposer les éléments nocifs présents dans votre étang tels que le phosphore, l'azote, les cyanobactéries et les nutriments polluants. Les bactéries et enzymes vont permettre de retrouver une eau plus propre et claire.

- **Étape n°2** : Aérer l'étang

Une fois les nutriments d'étang décomposés, il est nécessaire de mettre une place un système d'aération qui diffusera de l'oxygène. Cela va permettre de renforcer l'efficacité des bactéries bénéfiques et d'éradiquer les algues bleues et les nutriments polluants restants.

- **Étape n°3** : Supprimer les algues indésirables

Dernière étape, retirez manuellement les algues indésirables d'étang pour le maintenir en bonne santé. Ce dernier point vous permettra de supprimer les corps susceptibles de se transformer en nutriment et de conduire à une nouvelle prolifération des algues bleues.

(Probul.fr)

II.8. Les domaines d'utilisation des cyanobactéries :

Ces dernières années, les cyanobactéries ont fait l'objet de nombreux projets de recherche visant à découvrir et caractériser de nouveaux produits naturels exploitables dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques, biotechnologiques et agroalimentaires. **(Demay ,2018)** par exemples :

➤ **Le domaine pharmaceutique :**

Caractériser la diversité de molécules produites par les neuf cyanobactéries isolées des boues thermales puis d'estimer les propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et cicatrisantes des extraits bruts de ces cyanobactéries. **(Demay ,2018).***

➤ **Le domaine cosmétique :**

La spiruline contient des actifs pour nourrir la peau, des actifs antioxydants, cicatrisants, détoxifiants, régénérant, antirides, anti-dessèchement c'est pour cela qu'elle est utilisée par certaines marques de cosmétiques. (**Audrey, 2016**).

➤ **Le domaine agronomique :**

A. platensis est aussi utilisée comme fertilisant en agriculture et comme complément d'alimentation des animaux (**Gotaas 1959 ; Santillon 1974**).

➤ **Le domaine médical :**

A. platensis est particulièrement indiquée pour traiter les quatre plus importantes maladies de déficience dues à la malnutrition à savoir, la malnutrition protéique par sa richesse en protéines, l'anémie nutritionnelle par ses fortes teneurs en fer et en vitamine B12, la xérophtalmie par son taux élevé en provitamine A, le goitre endémique par sa teneur élevée en Iode (**Pascaud, 1993**).

➤ **Le domaine alimentaire :**

Les cyanobactéries sont particulièrement intéressantes en industrie pour la production du pigment bleu "la phycocyanine", un colorant naturel bleu non toxique qui peut, éventuellement, remplacer les colorants synthétiques dans les industries alimentaires (**Dainippon, 1980**).

II.9. Qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau :

❖ **Les caractéristiques bactériologiques :**

➤ **Microflore de l'eau :**

D'après **GALZY et GUIRAUD (1998)** la microflore de l'eau est constituée de trois types de germes :

✓ **Germes typiquement aquatique :**

Ce sont des cyanobactéries qui sont des algues microscopiques, et des bactéries (*vibrions, Pseudomonas, ... etc.*).

Ces germes aquatiques sont présents dans les nappes en contaminant le réseau d'adduction, les parois de canalisation leur servant parfois d'habitat.

✓ **Germes tellurique :**

Sont des bactéries sporulées (*Bacillus*, *Clostridium*) ou appartenant au germe *Streptomyces* et des spores fongiques. Elles sont présentes parfois dans les nappes ou elles peuvent contaminer le réseau en mauvais état.

✓ **Germes de pollution humaine et animale**

Ce sont des germes souvent pathogènes et essentiellement d'origine intestinale, il s'agit d'entérobactéries (*E. coli*), *Clostridium perfringes*, *vibrio cholerae*...

On peut également rencontrer dans l'eau des protozoaires et autres parasite (kystes de L'amibe), et des virus (Poliomyélite, Hépatitevirale A et B).

➤ **Les principaux germes recherchés dans l'eau :**

✓ **Les coliformes :**

Le terme « coliforme » regroupe un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant à la famille des *enterobacteriaceae*. (Rodier et al ,2005).

Ce sont des organismes en forme bâtonnet, non sporogènes, facultativement anaérobies, ils comprennent les genres : *Escherichia*, *Citobacter*, *Klebsiella* et *Enterobacter*, *Yersina*, *Serratia* (Roux, 1989).

Les coliformes sont intéressants car un très grand nombre d'entre eux vivent en abondance dans les matières fécales des animaux et de ce fait, constituent des indicateurs fécaux de première importance (Rodier et al, 2005).

✓ **Streptocoque fécaux**

Ce sont des bactéries Cocci en chaînette, regroupés sous le terme de « Streptocoques Fécaux » les germes essentiels du groupe sont : *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. hirae*, *Streptococcus bovis*, *S. suis* et *S. equinus* (Roux, 1989).

Ces streptocoques sont généralement pris comme indicateurs de pollution fécale.

(Rodier et al, 2005).

✓ **Clostridium sulfito-réducteur :**

Ce sont des bactéries anaérobies strictes, sporulantes, sulfito- réductrices, considérées Comme témoin de pollution fécale.

La forme sporulée, beaucoup plus résistante que les formes végétatives, permet de déceler une pollution fécale ancienne (Roux, 1989).

Les Colistridiumssulfito-réducteur étant pratiquement toujours présents dans les

Rivières et le sol, leur absence dans une nappe sous-jacente, et surtout l'absence de leurs spores, constituent un bon signe de l'efficacité de filtration naturelle (**Rodier et al, 2005**).

✓ **Staphylocoques pathogènes :**

Ce sont des bactéries qui appartiennent à la famille des *Bacillaceae*, les infections engendrées par cette espèce sont dues, principalement, à des souches de *S. aureus*, mais aussi à des autres espèces de staphylocoques d'origine humaine, parfois pathogènes opportunistes (*S. épidermoïde, S. saprophytiques...*) :

Infections cutanées, infection septicémique redoutable, infections liées à la consommation d'eau et d'aliment contaminés (**Dalarras, 2003**).

✓ **Salmonelles :**

Ce sont des coccobacilles appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, généralement considérés comme pathogènes bien que leur virulence et leur pathogénicité varient énormément : fièvre typhoïde, les salmonelles systématiques, gastro-entérites, toxico-infections alimentaires. Humains et animaux peuvent éliminer dans les selles des salmonelles non seulement en cas de maladies mais aussi en tant que porteurs asymptomatiques. Les salmonelles peuvent donc être présentes dans l'eau des égouts, agricoles et domestiques, les eaux douces, y compris les eaux potables et les nappes phréatiques, ainsi que l'eau de mer.

(**Bourgeois et Leveau, 1980**) ;(**Rodier et al, 2005**).

✓ **Vibrions :**

Les vibrions font partie de la famille de *vibrionaceae*. Dans les pays où le choléra a pratiquement disparu, il est rare que la recherche du vibron cholérique dans les eaux d'alimentation présente un intérêt. Leur recherche se fait uniquement en cas de présence d'un cas suspect (**Delarras, 2003**).

❖ **Les caractéristiques physico-chimiques :**

Les substances présentes dans l'eau peuvent être classées selon deux modes différents :

-Suivant leur nature chimique : organique ou minérales.

-Suivant leur étape physique : matières dissoutes, colloïdales ou en suspension.

a) **Les matières minérales**

Ce sont essentiellement des composés ioniques, anions et cations, qui proviennent de la Dissolution des roches dans l'eau qui circule à leur contact. L'eau contient également des gaz dissous ayant une grande importance dans les phénomènes biologiques ainsi que chimiques comme par exemple la corrosion.

b) Les matières organiques

Ce sont des composés du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et de l'azote. Ces matières proviennent soit de l'érosion des sols, soit de la décomposition de matières animales ou végétales qui se retrouvent dans l'eau (**Rejsek, 2002**).

c) Les matières dissoutes

Ce sont des matières dispersées de façon homogène dans l'eau, faiblement polarisées où Ionisées, elles obéissent à des équilibres de dissolution en fonction de la température et de la pression, ce dernier facteur étant très important pour les gaz .Du fait de leur état dissous, ces molécules sont difficiles à éliminer dans l'eau. Si leur élimination est nécessaire, par exemple pour les nitrates, il faudra utiliser des méthodes Chimiques ou biologiques (**Rejsek, 2002**).

d) Les matières colloïdales

L'état colloïdal est un état intermédiaire entre l'état dissous et l'état en suspension. Les matières colloïdales sont constituées d'éléments de petite taille chargés négativement, ce qui explique qu'ils se repoussent et se répartissent de façon dispersée et désordonnés dans la masse liquide. Aussi, leur élimination dans l'eau est difficile car elles ne décantent pas de manière spontanée et sont peu retenues par les filtres.

e) Les matières en suspension

Ce sont des particules solides dont la taille est supérieure à 10µm, dispersées dans l'eau sans être chimiquement liées avec elle. De ce fait, leur élimination est assez simple car, si l'on fait reposer l'eau, elles décantent de manière spontanée et peuvent être retirées de l'eau par des procédés physiques simples (décantation, filtration) (**Rejsek, 2002**).

Chapitre II
Matériels et
Méthodes

I. Présentation de la zone d'étude

I.1. La wilaya de Laghouat

La wilaya de Laghouat occupe une position centrale, reliant les hauts plateaux avec le Sahara. Elle se situe à 400 kilomètres au sud de la capitale Alger ($33^{\circ} 48' N$, $02^{\circ} 53' E$) et couvre une superficie de 25 052 kilomètres carrés et fait partie du groupe des neuf wilayat pastorales du pays. Elle se situe à 400 Km au sud de la capitale Alger, Elle est limitée au Nord et à l'Est par la wilaya de Djelfa, au Nord –ouest par les wilayas de Tiaret et El-Bayad et au sud par wilaya de Ghardaïa. (Amrani et Chehma, 2020).



Figure09 : Carte de la position géographique et administrative de la wilaya de Laghouat
(Source : www.researchgate.net)

I.2. Cadre bioclimatique

Le climat est l'un des facteurs les plus déterminants du milieu naturel, notamment dans le développement du couvert végétal.

Le climat joue un rôle fondamental dans la distribution et la vie des êtres vivants. Il dépend des nombreux facteurs : vent, lumière, pression atmosphérique, relief et natures du sol, voisinage ou éloignement de la mer (Faurie *et al.* 2003).

La cadre bioclimatique de notre étude est fait à partir d'une synthèse des données climatiques d'une période de 10 ans à partir 2009 jusqu' à 2018 (O.N.M., 2018).

I.2.1. Les précipitations

Les précipitations représentent le facteur le plus important du climat. La quantité d'eau dont dispose la végétation dépend des pluies, de la neige, de la grêle, de la rosée, de la gelée blanche, des brouillards et des brumes, mais aussi de l'évaporation et de la porosité du sol (Faurie *et al.*, 2003).

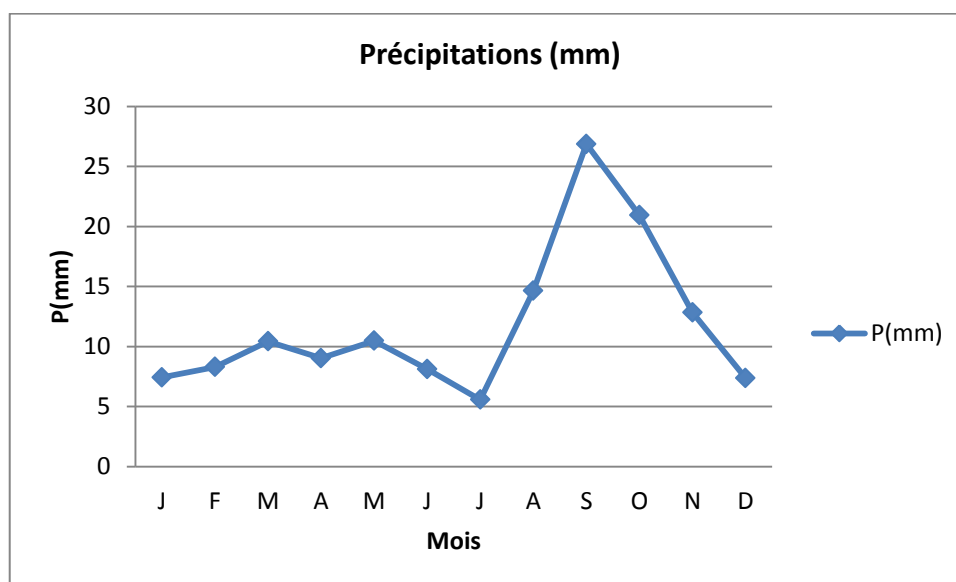


Figure 10 : Variations des précipitations moyennes annuelles de la station de Laghouat (2009-2018).

Selon le diagramme des précipitations moyennes annuelles de la période de 2009 à 2018 on constate que le mois le plus arrosé est le mois de Septembre avec une pluviométrie de 26,86 mm.

I.2.2. Températures :

La température influence considérablement la végétation, elle est l'élément climatique le plus important dans l'aire de répartition des végétaux sur le globe (Prévost., 1999).

La température est un facteur limitant d'une grande importance car elle conditionne l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne de ce fait la répartition de la totalité des espèces et des communautés dans la biosphère

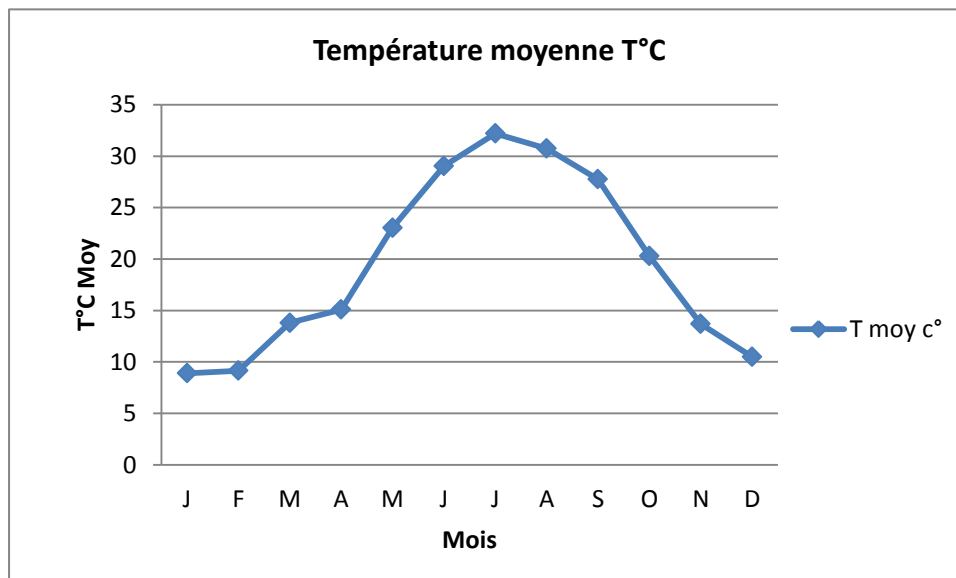


Figure 11 : Variations des températures moyennes annuelles de la station de Laghouat (2009-2018).

L'évolution des températures moyennes mensuelles sur une période de 10 ans montre clairement l'effet de la saison sur la croissance de ce paramètre. Des températures très basses durant la période hivernale entre 8.9 °C et 10.5 C°. En revanche, un pic a été marqué pour le mois le plus chaud de juillet d'où la valeur moyenne est autour de 32.2 C°.

I.3.Description et critères de choix des sites de prélèvement

Le choix des sites a été fait selon :

- L'un des critères clés, la présence de l'eau et l'accessibilité
- Aspect topographique, couvert végétal
- Voir son importance socio-économique d'une part et écologique d'autre part
- De sa fréquentation par l'homme et le pâturage.

Tableau 05 : Caractérisations géographiques des sites étudiés (* faible ; ** moyen ; *** forte) (R : région)

N°	Sites	Altitude (m)	Type	Profondeur Max (cm)	Origine	Etage bioclimatique	Anthropisation
1	Khneg (R1)	782 m	Mare	100	Artificiel	saharien	***
2	Sidi Makhlouf 1(R2)	993	Oued	150	Naturel	saharien	*
3	Sidi Makhlouf 2 (R3)	993	Oued	60	Naturel	saharien	*
4	Ghaicha (R4)	1 144	Oued	160	Naturel	Semi-aride	**
5	Tadjmout (R5)	903	Barrage inféro-flux	800	Semi-Artificiel	Arde	**
6	Kaser Elhirane 1(R6)	724	Oued	50	Naturel	Saharien	***
7	Kaser Elhirane 2 (R7)	724	Oued	40	Naturel	Saharien	***
8	Tawiyala (R8)	1 239	Oued		Naturel	Semi-aride	**
9	Lalmaya (R9)	915	Retenue collinaire	200	Semi artificiel	Arde	**

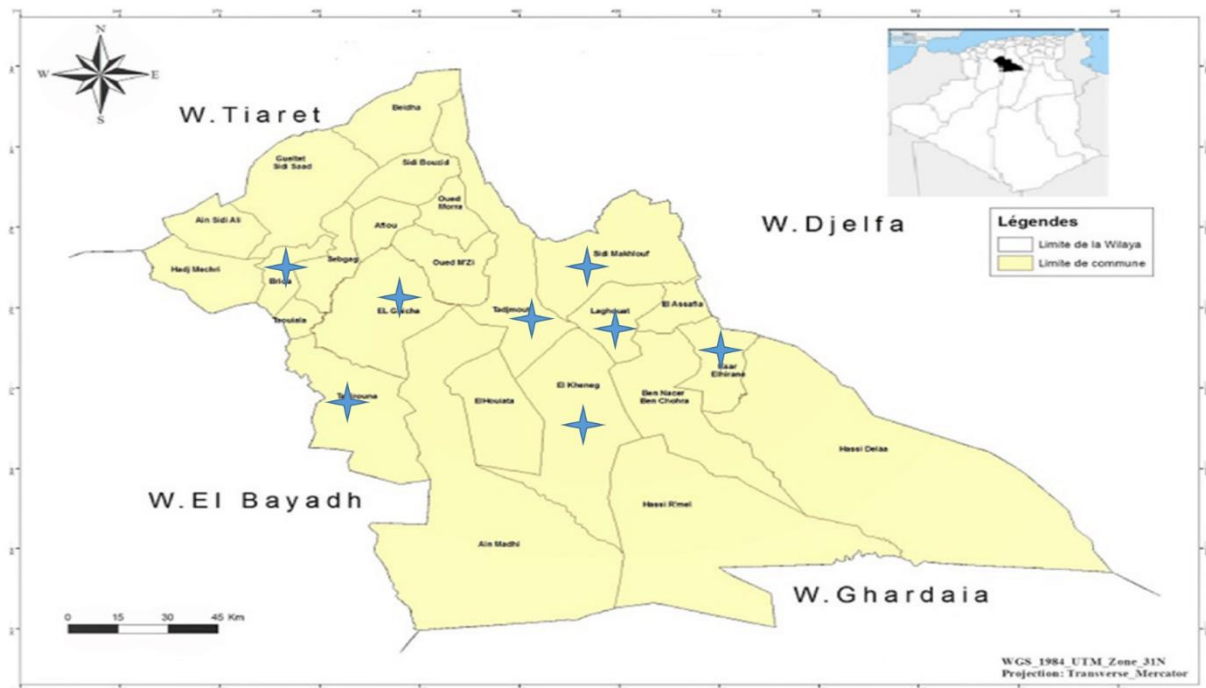


Figure 12 : Localisation géographique des sites prospectés.

(Source : www.researchgate.net).

II. Méthode de l'étude

II.1. Echantillonnage

Le mode d'échantillonnage adopté, l'effort de l'échantillonnage, le nombre de relevés et la taille de l'échantillon, tout ça représente le point de départ et l'étape la plus importante qui reflète par la suite le degré de fidélité des résultats et la valeur réelle de l'information recherchée.

Sur le terrain et avant de faire n'importe quelle opération il faut tout d'abord :

- Consacré au moins une sortie à la prospection du site et proposé des points de relevés,
- Le choix des stations de prélèvement doit tenir compte les points suivants : l'accès, la profondeur, l'exposition ou non au vent.

Un total de dix-huit relevés été réalisés afin de connaître les aspects physico-chimiques des eaux et de faire un suivi de la communauté du phytoplancton (les cyanobactéries). Ainsi deux séries de prélèvement a été réaliser afin d'étudier la flore bactérienne et de déterminé l'origine de la contamination d'un site d'intérêt socio-économique.

II.1.1.Prélèvement des cyanobactéries

Afin d'obtenir des données d'ordre qualitatives et quantitatives de la communauté de la cyanobactérie de différents plan d'eau, nous avons utilisé un filet à plancton professionnel (Fig.05), avec un vide de maille égale à 20µm. Le principe de fonctionnement est de faire laisser passer une quantité d'eau à plusieurs reprises (une dizaine de litres) pour récupérer un volume de (100 ml) appelé le filtrat. Le filtrat est par la suite versé dans des flacons ombrés 10 ml de formol à 10% afin d'assurer une meilleure fixation et de faciliter la décantation des espèces phytoplanctoniques pour une investigation microscopique ultérieure. Une autre méthode de fixation d'ordre qualitative adoptée par **Sournia (1978)**, dans laquelle, 20 ml de formol aldéhyde (10 %) est ajouté pour chaque flacon d'un litre d'eau.

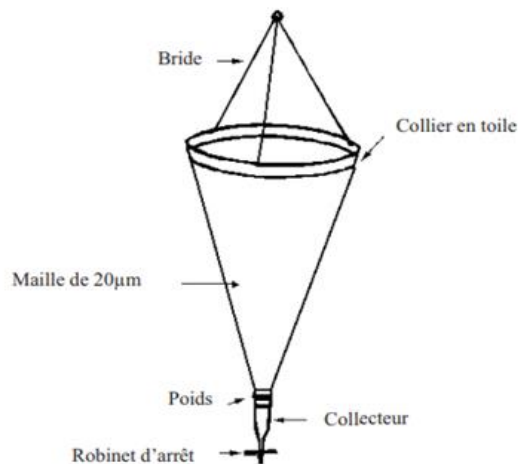


Figure 13 : Schéma représentatif d'un filet à plancton

Un prélèvement d'un 1.5 L de l'eau a été effectué pour faire une description physico-chimique de l'eau.

II .1.2.Prélèvement pour l'analyse bactériologique

Les prélèvements de l'eau ont été réalisés dans des conditions d'asepsie. Des flacons ombrés en verre de 250 ml stérilisé à l'autoclave pendant 30 mn à 200 °C

Pour le prélèvement in-situ de l'eau, le flacon est immergé complètement en position horizontale et contre-courant puis débouché. Après remplissage le flacon est rebouché (**Roux ,1987**).

Les flacons sont remplis au 5/6 de leurs volumes pour maintenir en vie les bactéries aérobies.

Les flacons sont soigneusement étiquetés et stockés dans une glacière et portés au laboratoire pour les analyses microbiologiques.

Lors de cette étude seulement le site de Khneg est concerné par l'analyse bactériologique.

II.1.3. Conservation d'échantillon

Tableau 06 : Conservateur et délai de conservation pour les deux prélèvements.

Prélèvement	Conservation	Délai
Echantillonnage des cyanobactéries	Lugol ou formol Glacière 4°C	7j
Echantillonnage de bactériologique	Glacière 4°C	8h

II.2. Analyses physico-chimiques

En vue de la caractérisation de la qualité de l'eau des sites prospectés, nous sommes intéressés à 4 paramètres physico-chimiques. Il s'agit de la température, le Ph, la conductivité électrique, matière en suspension. Ces paramètres ont été étudiés au niveau du laboratoire de l'université Ammar THLIDJI.

Tableau 07 : Appareillages et méthodes d'analyse et de mesures des différents

Paramètres physico-chimiques de l'eau.

Paramètres mesuré	Unité	Matériel utilisé	Mode opératoires
Température	°C	Thermomètre	<ul style="list-style-type: none"> • Enfoncer le thermomètre dans l'eau. • Attendre quelques minutes et lire la valeur indiquée.
pH	/	pH mètre	<ul style="list-style-type: none"> • Enfoncez la sonde dans l'eau attendez quelques minutes et lire la valeur indiquée.
Conductivité	µs/cm	Conductimètre	<ul style="list-style-type: none"> • Rincer l'électrode dans l'eau distillé. • prolonger l'électrode dans le flacon contenant l'échantillon. • lecture après la stabilisation de l'affichage numérique.
MES	Mg/l	Papier filtre Erlenmeyer Balance entonnoir	<ul style="list-style-type: none"> • peser le filtre • filtrer l'échantillon à travers un filtre de 1,5 µm • sécher la matière obtenue dans le filtre • peser le filtre après séchage • matières en suspension est obtenue en faisant la différence entre la masse du filtre incluant les résidus séchés et la masse initiale du filtre

Tableau 08 : Paramètres physicochimiques de l'eau mesurés dans les six sites prospectés.

Paramètres	Kheniga	Tadjmout	Ghaicha	Sidi makhoulouf	Kaser elhiran	Tawiyala	Lalmaya
T°C	*	*	*	*	*	*	*
pH	*	*	*	*	*	*	*
Cond (µS)	*	*	*	*	*	*	*
MES (mg/l)	*	*	*	*	*	*	*
CT (UFC)	*						
CF (UFC)	*						
Identification des germes	*						
Cyanobactéries	*	*	*	*	*	*	*
Total	8	5	5	5	5	5	5

II.3. Identification et dénombrement des cyanobactéries in vitro

La détermination des cyanobactéries est poussée jusqu'au genre. L'identification est réalisée à partir de l'observation microscopique, des critères morpho-anatomiques cités dans différentes clés d'identification (Bourelly, 1985) et (Michel, 1987). Nous nous sommes également référés quelques sites web pour la connaissance de la position systématique de certaines espèces.

Les critères retenus lors de la détermination sont :

- La structure de cyanobactérie.
- La forme de la colonie ou du trichome.
- La taille et la couleur.

○ Dénombrement

Le dénombrement des cyanobactéries recensées se base sur une méthode d'échantillonnage relative qui se déroule en plusieurs étapes :

- **Première étape (Fixation et sédimentation) :** Afin de réaliser un dénombrement dans de bonnes conditions, il faut ajouter quelques gouttes de Lugol dans l'échantillon (filtrat) 250ml. Le Lugol tue les cyanobactéries, les alourdit (ce qui facilite leur sédimentation) et permet leur conservation pendant plusieurs mois.
- **Deuxième étape (sédimentation par centrifugeuse) :** Ajouter quelques goutte de lugol dans 100 ml d'échantillon laisser sédimenté pendant une heure après prendre à l'aide

d'une pipette seulement la solution au fond (bien sédimenté), diviser l'échantillon prélevée six tubes et mettre dans centrifugeuse en symétrie pendant 3 min.

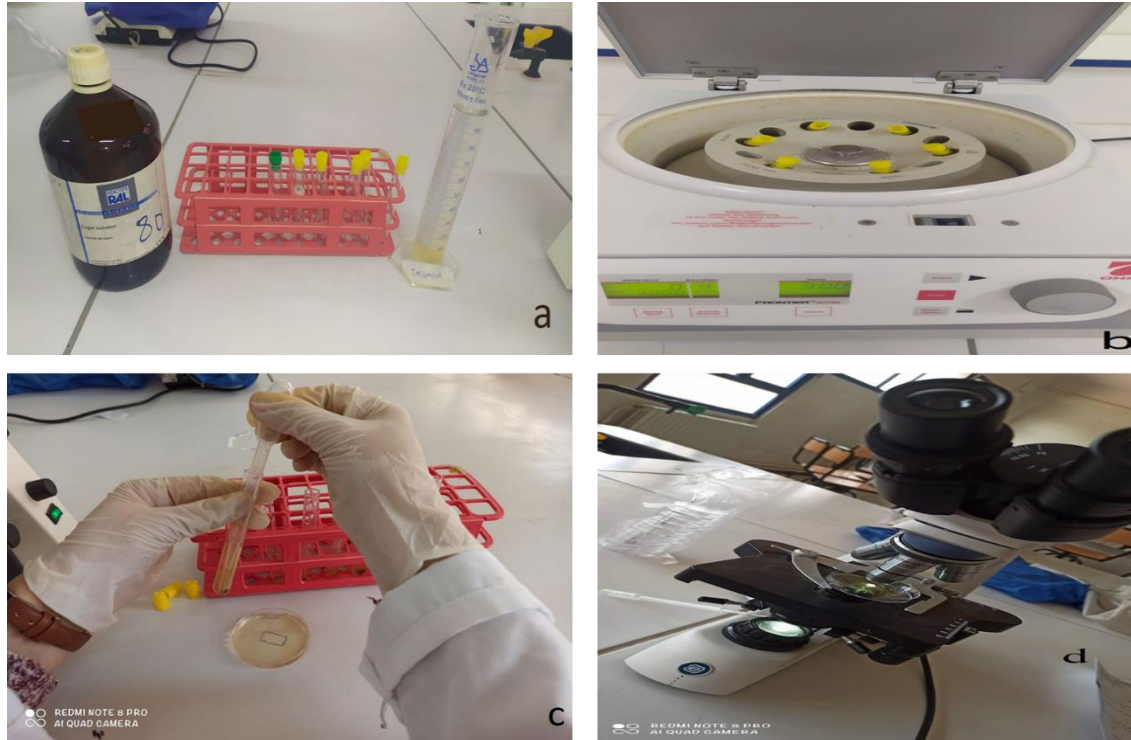


Figure14 : Les étapes suivies pour la technique de sédimentation des cyanobactéries.

(Originale, 2021).

- **Troisième étape :** préparer un microscope, une lame porte objet, une cellule de comptage, pipette graduée et un appareil photo pour prise de vues instantanées.
- **Quatrième étape :** Homogénéiser le flacon contenant l'échantillon par des simples mouvements, puis prélever un sous échantillon (le volume (10 à 20 ml) est choisi en fonction de la densité des cyanobacteries) et le déposer dans la cellule de comptage.
- **Cinquième étape (Comptage des cyanobacteries) :** Les dénombrements de cyanobacterie sont effectués à l'aide d'un microscope optique, en utilisant les objectifs (Gr x 10) et (Gr x 40). Les comptages ne concerneront pas l'ensemble de la surface de la boîte, mais seulement une sous chambre repérée de superficie déjà connu (2cm^2). Le comptage se fait par des parcours horizontaux sur toute la longueur de la sous chambre. Cette opération est répétée plusieurs fois (au moins 3 répétitions) pour avoir des valeurs moyennes plus proche des valeurs réelles.

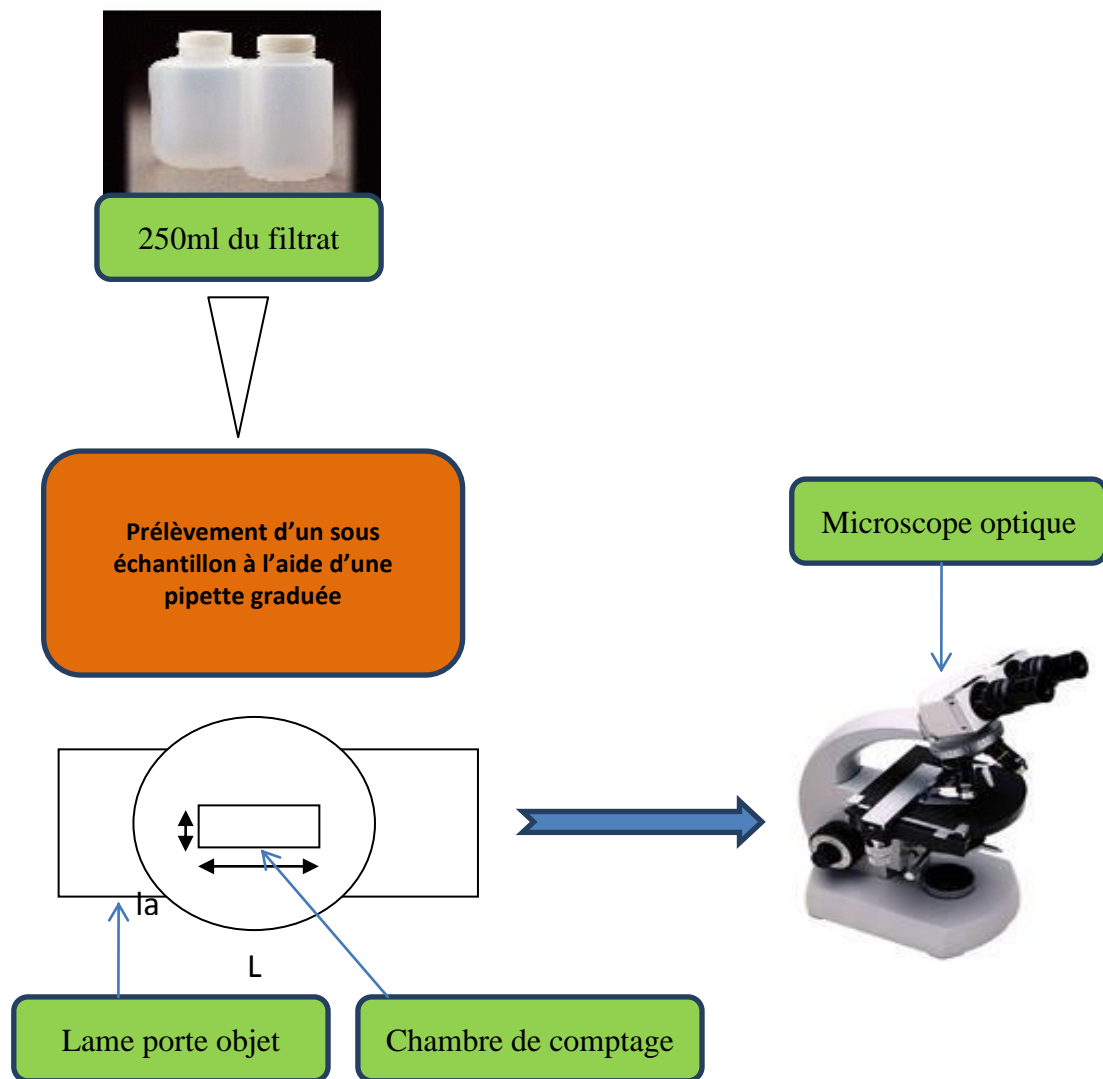


Figure 15 : Schéma représentant les étapes de l'étude qualitative et quantitative des cyanobactéries

II.4. Analyse bactériologique de l'eau

Lors de cette étude seulement le site de Khneg est concerné par l'analyse bactériologique.

II.4.1. Recherche et dénombrement des germes totaux

✓ Principe

L'eau est inoculée par incorporation dans un milieu strictement défini et non sélectif (TGEA).

Lire la lecture après incubation à 37 ° C pendant 24 à 48 heures.

✓ Mode opératoire

- Placer les flacons contenant de la gélose dans un bain-marie bouillante jusqu'à ce que le milieu fonde.
- Agiter soigneusement et de façon prolongée l'échantillon pour remettre en suspension d'une façon homogène les bactéries.
- Prélever ensuite stérilement 1ml de cette eau et déposer dans des boîtes de Pétri stérile de 90 mm de diamètre.
- Couler aseptiquement dans chaque boîte environ 20 ml du contenu de gélose fondue.
- Agiter doucement par un mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de gélose et de l'eau (sans faire de bulles et sans mouiller les bords de la boîte).
- Laisser refroidir sur une surface parfaitement horizontale et fraîche.
- Ajouter une deuxième couche de milieu.
- La moitié des boîtes ensemencées d'eau est incubée après solidification dans l'incubateur à 37°C durant 24h ,l'autre moitié est mise dans une enceinte de 20 à 22 °C durant 72 heures.

✓ Lecture

A l'aide d'un compteur de colonies, compter toutes les colonies présentes à la surface de la boîte.

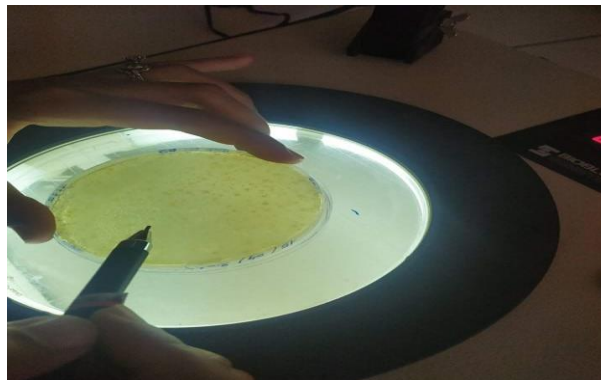


Figure 16 : Méthode de dénombrement des colonies par compteur de colonie.

(Originale, 2021)

II.4.2. Recherche et dénombrement des Coliformes fécaux

La méthode adoptée dans cette étude est celle de NPP par inoculation de tubes en milieux liquides.

✓ Principe

Après ensemencement de plusieurs dilutions de l'échantillon, chacune dans une série des tubes contenant un milieu de culture permettant de mettre en évidence la fermentation du lactose avec production de gaz (tubes positifs). La détermination de nombre caractéristique (nombre de tubes positifs pour chaque dilution) nous a permis de déterminer la NPP des coliformes en milieu liquide BCPL par deux tests. (Rodier et al., 2005).

✓ Test présomptif

Réservé à la recherche des coliformes totaux.

✓ Mode opératoire

- On utilise le milieu BCPL, munis d'une cloche de Durham pour déceler le dégagement de gaz.
- Ensemencent d'un nombre choisi des tubes de milieu de BCPL (5 tubes à double concentration, 5 tubes à simple concentration).
- Inoculer les tubes choisis pour l'eau à examiner (les 5 premiers par 10 ml, les 5 deuxièmes par 1ml et le flacon par 50ml).
- Après inoculation, agiter pour homogénéiser sans faire pénétrer d'air dans la cloche de Durham et placer les tubes dans l'incubateur à 37°C pendant 24 heures. Procéder à une première lecture après cette incubation (Rodier et al, 2005).

✓ Lecture

Considérer comme «positifs» les tubes où il se produit simultanément :

- Un trouble dans toute la masse liquide.
- Un dégagement de gaz dans la cloche.
- Un virage de couleur vers le jaune.

Le nombre des tubes positifs dans chaque série est reporté à la table de Mac Grady pour obtenir le NPP de coliformes présentes dans 100 ml.

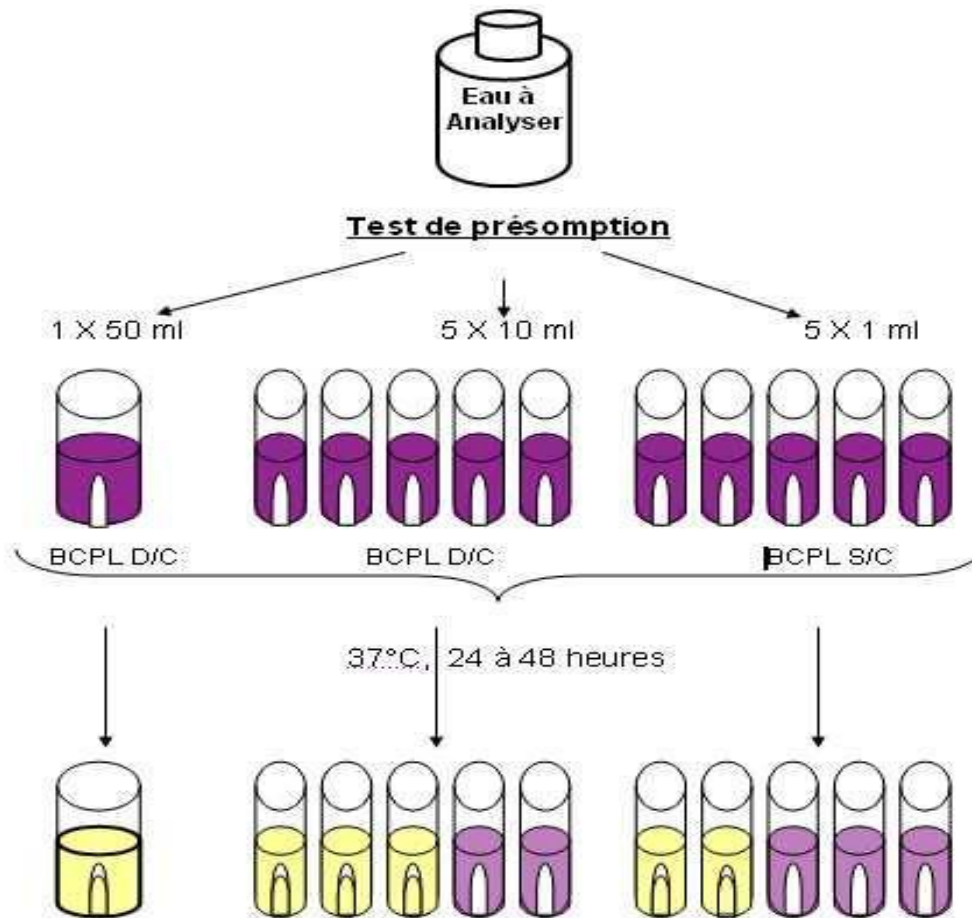


Figure 17 : Schéma représentatif des étapes suivies lors de la recherche et du dénombrement des coliformes totaux. (Labres et Mouffok, 2008)

✓ Test confirmatif

Ce test est effectué pour le dénombrement des coliformes fécaux.

Les milieux considérés comme positifs après le test présomptif sont repiqués dans un nouveau milieu qui est le milieu Schubert sélectif pour la recherche des coliformes thermo tolérants (CTT) incubés à 44°C pendant 24h.

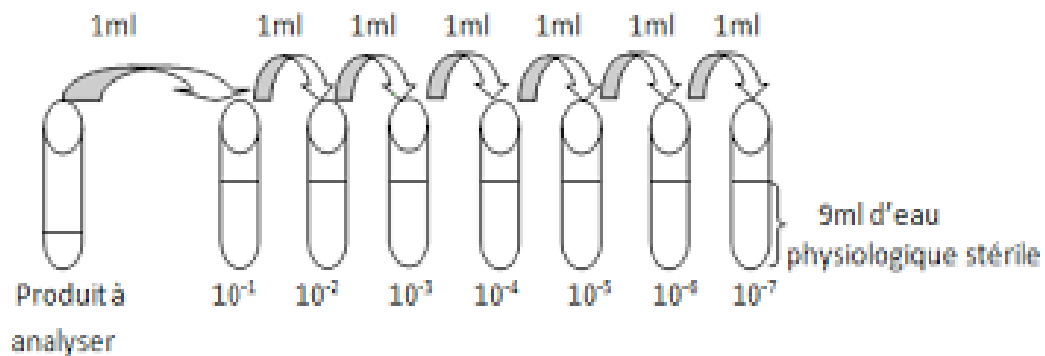
✓ Lecture

Les tubes positifs présentent à la fois un dégagement gazeux avec la présence d'un trouble microbien.

II.5. Recherche et isolement des germes

II.5.1. Préparation d'une série de dilution décimale

- Agiter vigoureusement le flacon contenant l'échantillon (la solution mère) et prélever 1ml d'échantillon à l'aide d'une pipette graduée, et mettre dans le premier contenant 9ml d'eau physiologie stérile (dilution au 1/10), referme et agiter ce tube.
- Prélever 1ml à partir de premier dilution et verser dans un autre tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. L'opération est renouvelée en changeant de pipette et en versant de nouveau 1ml dans un nouveau tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, et ainsi de suite, jusqu'à ce que la concentration en bactéries devienne relativement faible. Homogénéiser les tubes entre chaque dilution.



Série de dilutions

Figure 18 : Schéma représentatif d'une série de dilution décimale

(Source : <https://fsnv.univ-setif.dz>)

II.5.2. Ensemencement sur milieu ordinaire (ensemencement en surface)✓ **Principe**

Ensemencer aseptiquement plusieurs dilutions de l'échantillon, chaque dilution dans une boîte pétrie contenant un milieu de culture GN, incubé à 37°C pendant 24h.

✓ **Dénombrement**

Le nombre de colonies apparues après culture sur milieu solide répond au nombre de cellules microbiennes présentes dans le volume analysé de la suspension, le nombre de colonies retenues après culture doit être compris entre 30 et 300 colonies (**Meyer et al, 2004**)

Après 24h d'incubation à 30°C, les colonies développées sont dénombrées à l'aide d'un compteur de colonies.

II.5.3. Purification

Un seul type de micro-organisme ne peut pas être étudié en culture mixte. Il faut une culture pure, c'est-à-dire une population cellulaire à partir d'une seule cellule pour caractériser une seule espèce (**Lansing et al, 2003**). Les colonies pures sont obtenues par la technique des quatre quadrants.

- Sélectionner les colonies d'aspect macroscopique différent (taille, couleur, opacité,...)
- Repiquer aseptiquement les colonies isolées à partir du milieu ordinaire dans des boîtes pétries contenant milieu GN et ensemencer par technique de quatre quadrants.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

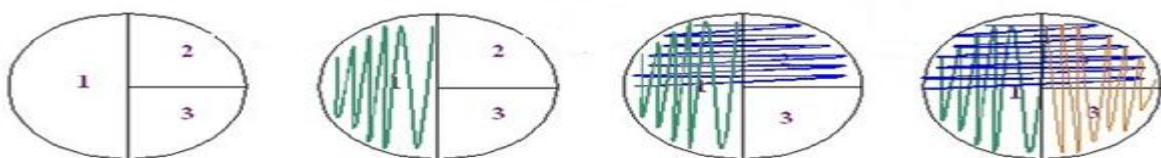


Figure 19 : Schéma représentatif de la technique de quatre quadrants.

(Source : www.magazinescience.com)

II.6. Identification

L'identification des bactéries isolées est réalisée à l'aide de leur aspect morphologique et leurs propriétés biochimiques.

II.6.1. Aspect macroscopique de la colonie

L'aspect macroscopique des cultures sur milieu solide constitue encore une part importante de l'identification d'un microorganisme, on peut caractériser les bactéries selon l'aspect des colonies formées. Plusieurs critères peuvent être alors envisagés :

- La taille ;
- La forme : punctiforme, ronde régulière, dentelée irrégulière (striation radiale ou concentrique) ;
- L'aspect : colonie rugueuses, ou smooth, à surface lisse, brillante ou régulière ; colonie muqueuses, à l'aspect gras ou coulant.
- Le volume : colonie bombées ou plates, étalées.
- La couleur : selon l'élaboration d'un pigment. (**Meyer et al, 2004**).

II.6.2. Repiquage sur milieu sélectif

Tableau 09 : Caractérisation de 3 milieux sélectif utilisé pour identification.

Milieu de culture	caractérisation	Technique d'ensemencement	Incubation
Chapman	Le milieu Chapman Permet l'isolement sélectif de staphylococcus sur la base d'une tolérance à une forte teneur en NaCl (Marchal et Boudron, 1991).	En strie dans des boîtes pétries	37°C pendant 24 à 36h
Hektoen	La gélose Hektoen est un milieu d'isolement sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeants. La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de sels biliaries, de bleu de bromothymol et de fuchsine acide (inhibition des bactéries à Gram (+)). (Marchal et al, 1991)	En strie dans des boîtes pétries	Pendant 24h à 48h à 37°C
King A et B	Le milieu de King A permet la détection de la synthèse depyocyanine, pigment élaboré spécifiquement par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (bacille pyocyanique). Utilisé en parallèle avec le milieu de King B (détection de la pyoverdine), il permet d'orienter l'identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .(Marchal et al., 1991)	En strie dans des tubes bouchonnés	à 30°C pendant 4j à une semaine

II.6.3. Aspect microscopique (coloration de Gram)

✓ Principe

La coloration de Gram donne des indications très utiles pour la classification des bactéries selon :

- Le type Gram + ou Gram -

- la forme des bactéries
- la taille
- le mode de regroupement

La coloration de Gram s'effectue en trois phases :

a. Préparation et fixation des frottis

- Nettoyer une lame à l'alcool, et déposer une goutte d'eau physiologie stérile sur la lame.
- Prélever une colonie à partir d'un milieu solide à l'aide d'une pipette pasteur boutonné stérile.
- Frotter la pipette dans la goutte d'eau physiologie stérile et laisser sécher à l'air.
- Passer 3 fois la lame dans le bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

b. Coloration

- Recouvrir la lame par le violet de Gentiane pendant une minute, puis lavé à l'eau.
- Recouvrir à nouveau la lame avec du lugol pendant une minute et laver à l'eau.
- Décolores avec de l'alcool pendant 30 secondes et laver abondamment à l'eau distillée.
- Recouvrir la lame par la Fuchsine pendant une minute, lavée à l'eau puis séchée à l'air libre. (Galet et al, 2009).

c. Observation au microscope

Les bactéries Gram (+) sont coloré en violet, par contre les Gram (-) sont en rose. (Galet et al, 2009).

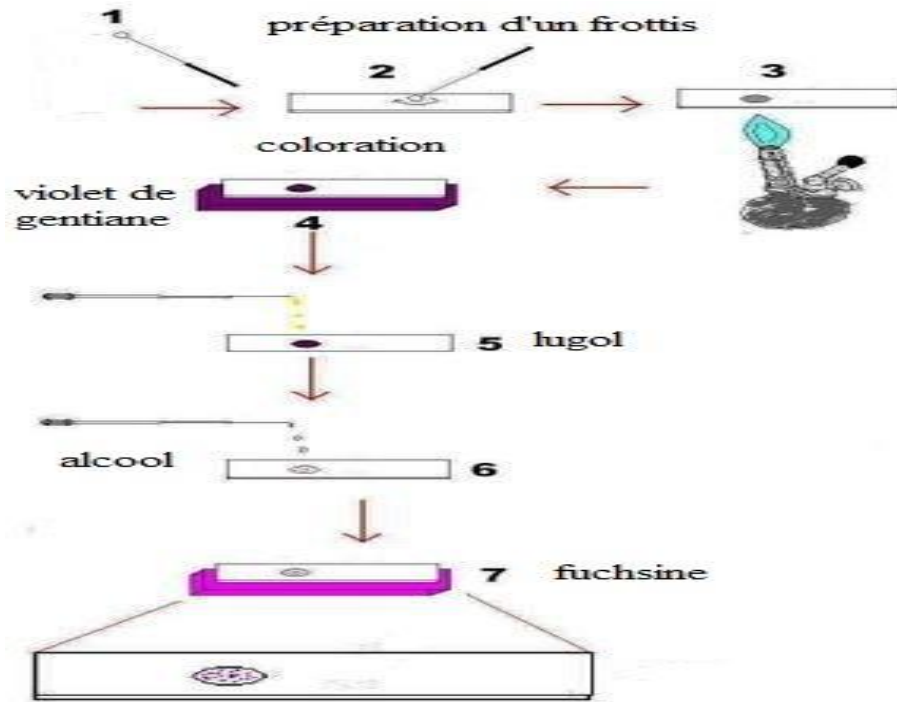


Figure 20 : Schéma représentatif des étapes de coloration de coloration de Gram.

(Source : www.technobio.fr)

II.6.4. Etudes des caractères biochimiques

a. Enzyme respiratoire

Tableau 10 : Méthode d'analyse les enzymes respiratoire. (Marchal et al, 1991).

Les enzymes	principe	Matériel utilisée	Mode opératoire	lecture
Catalase	La catalase est une enzyme ayant la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) avec dégagement d'oxygène.	Une lame. Eau oxygéné. Pipette pasteur. Colonie cible.	Sur une lame ajouter une goutte d'eau oxygéné et déposer la colonie cible à l'aide d'une pipette pasteur stérile.	Présence de bulle d'air = catalase + Absence de bulle d'air = catalase -
Oxydase	est un test de détection de l'enzyme cytochrome oxydase qui peut oxyder la N-diméthyl-paraphénylene diamine, ce qui donne des produits violacés.	Une lame. Disque d'oxydase. Pipette pasteur. Eau physiologie stérile. Colonie cible.	Racler une colonie et déposer sur le disque d'oxydase et ajouter quelque goutte d'eau. physiologie stérile	la lecture est immédiate par changement la couleur de disque au violet.

b. Test de biodégradation de phénol

Pour but de mettre le phénol comme la seule source de carbone pour la croissance microbienne (Bared et al., 2010), nous avons utilisé un milieu minérale (Yi Li et al., 2010) qui contient les sels minéraux nécessaire à la croissance des bactéries (Bared et al., 2010)

Dans des flacons contenant un volume de 45ml de milieu minérale autoclavé pendant 20 min, on ajoute aseptiquement une concentration de phénol et la bactérie, et on met un témoin sans l'ajout de la bactérie pour la comparaison des résultats.

Les flacons sont incubés à 37°C pendant une semaine (Jiang *et al*, 2007).

La lecture des résultats de biodégradation se fait par la méthode de dosage colorimétrique de phénol avec une solution de carbonate de sodium (600 µl) et le réactif folin ciocalteu (200 µl), qui est une méthode habituellement utilisé pour mesurer les phénols totaux dans une solution. Lorsqu'ils sont en présence de phénols, les acides présents dans le réactif sont réduits en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (Waterhouse, 2010).

c. Galerie API 20 E des souches d'intérêt

✓ Principe

La galerie API 20E comporte des micro-tests permettant de déterminer 20 caractères biochimiques de la souche à identifier. la lecture met en jeu un code numérique pouvant être traduit grâce à un logiciel. (Marchal *et al*, 1991).

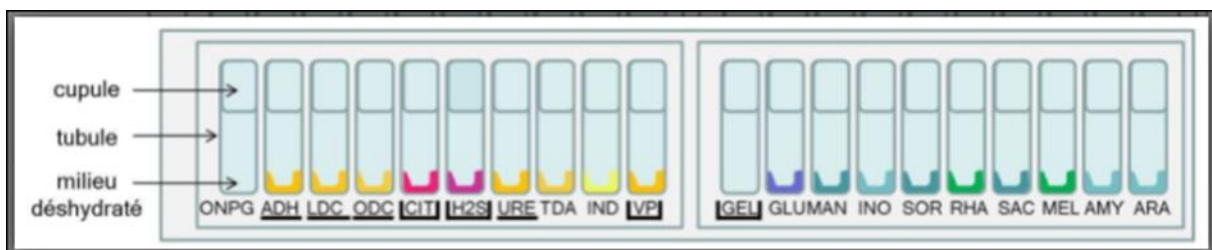


Figure 21 : Schéma représentatif de la galerie API 20 E. (www.ephytia.inra.fr)

✓ Préparation de l'inoculum

La souche prédominante isolée est prélevé à l'aide d'une pipette pasteur à partir d'une culture sur milieu solide, et la mettre dans des tubes contenant 5ml d'eau physiologique stérile, une suspension bactérienne est réalisé en homogénéisant soigneusement les bactéries dans l'eau physiologie d'une opacité de 0.1 Mac Farland à 620nm. (Fiche technique API 20E).

✓ Inoculation de la galerie

- Créer une atmosphère humide par l'ajoute d'eau physiologie stérile dans la chambre d'incubation da la galerie.

- Remplir aseptiquement la cupule par la suspension bactérienne pour les substrats dont le nom est encadré (CIT, VP...). (tests en aérobiose riche en oxygène).
- Remplir la cupule avec de l'huile de paraffine pour les substrats dont le nom est souligné (ADH, LDC...), (absence d'oxygène).
- Remplir juste le tubule pour les autres substrats.
- Mettre la galerie dans chambre humide et Incuber pendant 18 à 24h à 37°C.



Figure 22 : Inoculation de la galerie API 20 E. (Originale, 2021).

✓ Lecture

L'ajout des réactifs pour quelque test après l'incubation (test TDA, VP, IND). Le virage de couleur indique la réaction positive. (**Fiche technique API 20E**).

Résultats et Discussion

I.1. Résultat des paramètres physico-chimiques

○ Température (T°C)

La température présente des variations similaires dans l'ensemble des sites prospectés ; la valeur la plus basse est enregistrée dans le site Ghaïcha et la plus élevée au niveau de site Kaser elhiran 1 de (fig.1).

Au sein des neuf sites étudiés, la gamme de température n'est pas critique, où les valeurs enregistrées comprise entre 8.7°C comme limite inférieure et de 11°C comme limite supérieure.

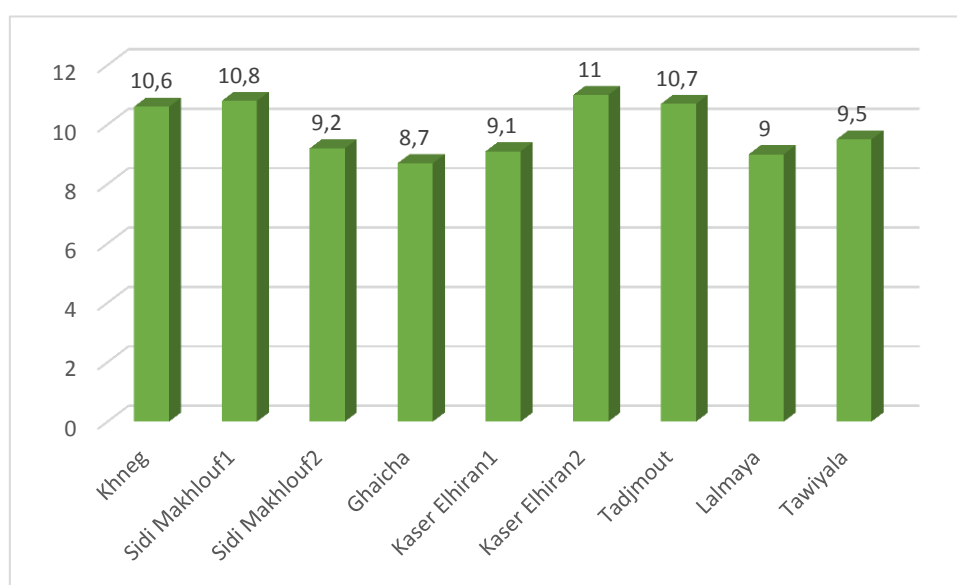


Figure 23 : Variation de température dans les neuf sites étudiés.

○ Discussion

Aminot et Chaussepied(1983), montre que la température est un facteur environnemental important pour la vie aquatique contrôlant l'ensemble des processus biologiques tels que la reproduction, la croissance et le préférendum thermique, liés à un environnement donné.

Les fluctuations de ce paramètre sont en relation avec les conditions climatiques locales et régionales et plus particulièrement avec la température de l'air, ainsi que les phénomènes d'évaporation d'eau et de précipitations qui en résultent quand cette dernière augmente.

○ La conductivité (Cond μS)

Elle présente des alternances d'un site à l'autre avec des valeurs variées dans l'ensemble des neuf sites étudiés. La valeur maximale est relevée dans l'oued de Sidi Makhoulouf 2. La faible valeur est enregistrée dans l'oued de Ghiacha.

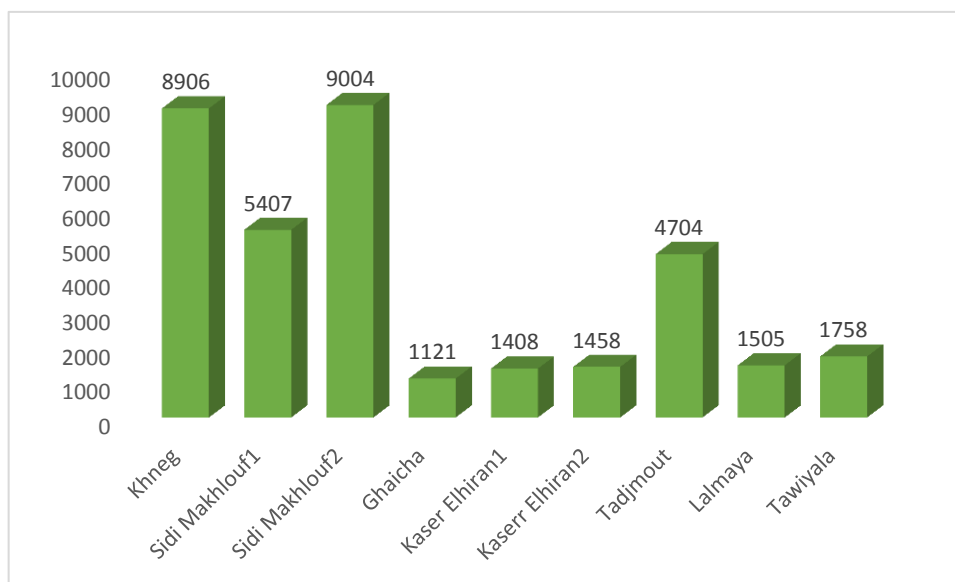


Figure 24 : Variation de La conductivité (Cond μS) dans les neuf sites étudiés.

○ Discussion

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes. La plupart des matières dissoutes dans l'eau se trouvent sous forme d'ions chargés électriquement. Donc la mesure de la conductivité permet d'évaluer la minéralisation globale de l'eau. (Rejsek, 2002)

○ Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH de l'eau est neutre, généralement proche ou égale à 7. Ce paramètre présente une évolution similaire dans l'ensemble des sites échantillonnés.

La valeur la plus élevée est enregistrée dans l'oued de Sidi Makhoulouf où le pH= 8,2 la valeur basse est enregistrée dans l'oued de Ghiacha où le pH=6.55.

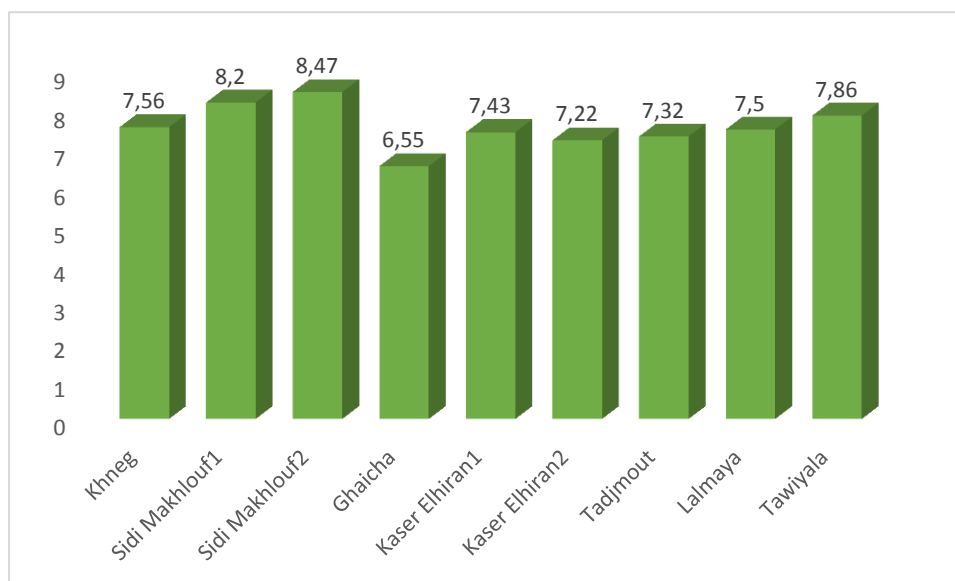


Figure 24 : Le pH de l'eau dans les neuf sites prospectés.

○ Discussion

Les eaux naturelles ont en général un pH qui varie entre 6,5 et 8,5. Si le pH est en dessous de (4,5), des irritations des membranes muqueuses peuvent se produire et l'eau devient fortement corrosive, avec un goût aigre. Si le pH est au-dessus de 10, les mêmes irritations se produisent et le goût devient savonneux. Le pH de l'eau permet de classer celle-ci en trois catégories selon l'échelle adoptée par **Hecker et al (1996)**. Eau acide (pH < 5,5), eau neutre (pH = 5,5 à 7,4), eau alcaline (pH > 7,4). En pratique, les eaux ayant un pH supérieur à 8 ou inférieur à 6 sont rares mais on peut rencontrer des pH plus élevés dans des situations d'eutrophisation d'eau.

○ Matière en suspension (MES)

Nos données montrent que, les teneurs en MES varient d'un site à l'autre et d'un prélèvement à l'autre. Les teneurs maximales sont relevées dans le marre de khneg. Les faibles valeurs sont enregistrées dans l'oued d'El Ghaicha.

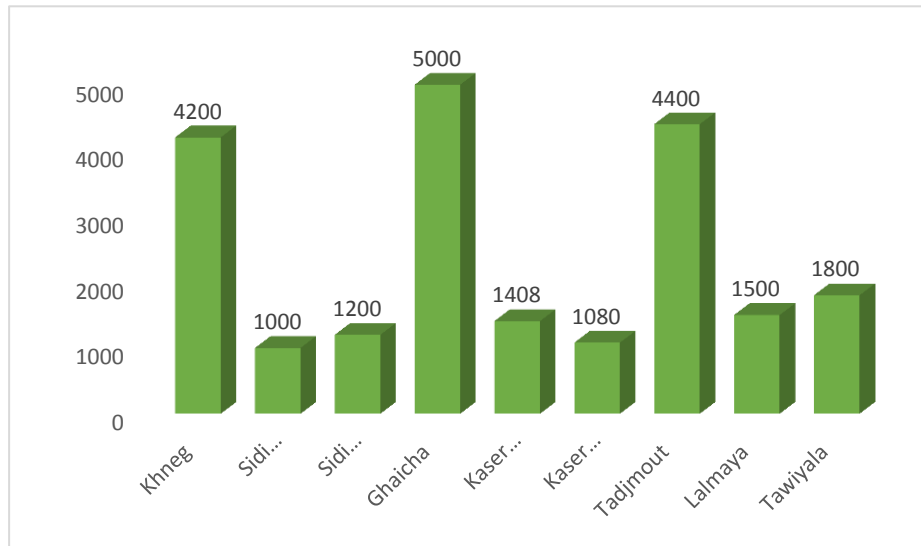


Figure 26 : Variation de la matière en suspension de l'eau dans les neuf sites.

○ **Discussion**

Les matières en suspension, représentent l'ensemble des particules minérales et organiques contenues dans les eaux. Elles sont fonction de la nature des terrains traversés, de la saison, de la pluviométrie, de régime d'écoulement des eaux, de la nature des rejets, etc. (**Rodier, 1984**). Les teneurs élevées en matières en suspension peuvent être considérées comme une forme de pollution. Une telle hausse peut aussi entraîner un réchauffement de l'eau, lequel aura un effet Etude qualitative et quantitative du peuplement de cyanobactérie de réduire la qualité de l'habitat pour les organismes d'eau froide (**Hébert et Légare, 2000**).

I.2. Résultat de l'étude qualitative et quantitative du peuplement des cyanobactéries

Tableau 11: Fiche technique des paramètres physique-chimique et de la disruption des cyanobactéries dans les neufs sites étudiées.

paramètres stations	Khneg	Sidi makhlouf 1	Sidi makhlouf 2	Ghaicha	Kaser el hiran 1	Kaser el hiran 2	Tadjmout	Lalmaya	Tawiyala
Nature	Mare	Oued	Oued	Oued	Oued	Oued	Barrage	Oued	Oued
Date	février	février	février	Février	Février	février	mars	février	février
T°C	10,6°	10,8°	9,2°	8,7°	9,1°	11°	10,7°	9°	9,5°
PH	7,56	8,2	8,47	6,55	7,43	7,22	7,32	7,5	7,86
Cond (µS)	8906	5407	9004	1121	1408	1458	4704	1505	1758
MES (mg/L)	4200	1000	1200	5000	1408	1080	4400	1500	1800
La présence des espèces des cyanobactéries dans les neuf sites									
<i>Oscillatoria sp</i>	28	5	1	10	/	1	1	/	2
<i>Microcystis sp</i>	31	10	5	150	6	105	112	/	3
<i>Pseudoanabaena sp</i>	6	2	/	20	/	/	/	/	/
<i>Spirolina sp</i>	/	/	/	5	/	/	/	/	/
<i>Merismopidia sp</i>	/	/	/	/	/	/	/	/	2
<i>Anabaena sp</i>	1	/	/	/	/	/	/	/	/
<i>Chroccocus sp</i>	/	/	/	/	/	/	/	/	1
<i>Aphanizominon sp</i>	3	/	/	/	/	/	/	/	/

Des prélèvements ont été effectués au niveau de neuf sites de l'eau superficielle dans la région de Laghouat ". Après l'observation au microscope photonique des échantillons prélevés, nous avons pu identifier huit genres de cyanobactérie qui sont : *Oscillatoria*, *Microcystis*, *Anabaena*, *Pseudoanabaena*, *Spirulina*, *Merismopedia*, *Chroococcus*, *Aphanizommon*. Selon la clé de détermination de (Bourrelly, 1985 ; Rippka, 1988 ; Coute, 1995 ; Anagnostidis, 1999 ; Komarek, 2005 ; Nasri, 2001).

○ *Oscillatoria* sp

Les trichomes du genre *Oscillatoria* sont libres, solitaires, dépourvus de gaines .Ils sont droit ou flexueux, parfois tordus en hélice régulière.

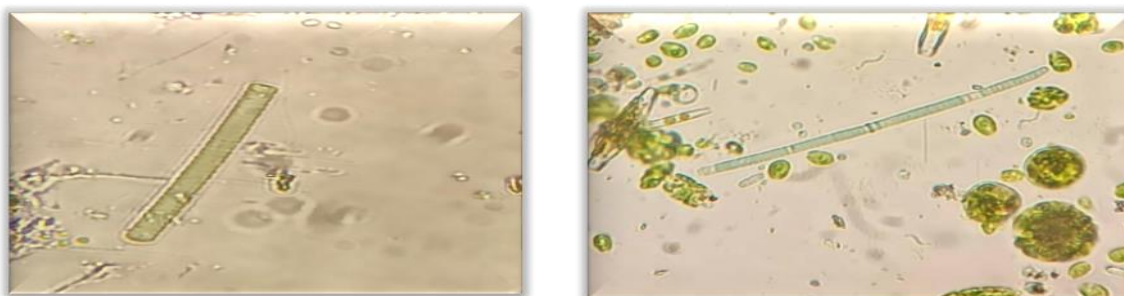


Figure 27 : Observation microscopique de genre *Oscillatoria* à l'objectif 40 (originale, 2021).

○ *Pseudoanabaena* sp

Trichome droit à cellules isodiamétriques ou cylindriques, mobiles et sans gaine Les cellules possèdent des vacuoles de gaz polaires; elles sont séparées par des constriction profondes. La reproduction s'effectue par fragmentation transe cellulaire ou intercellulaire du trichome.

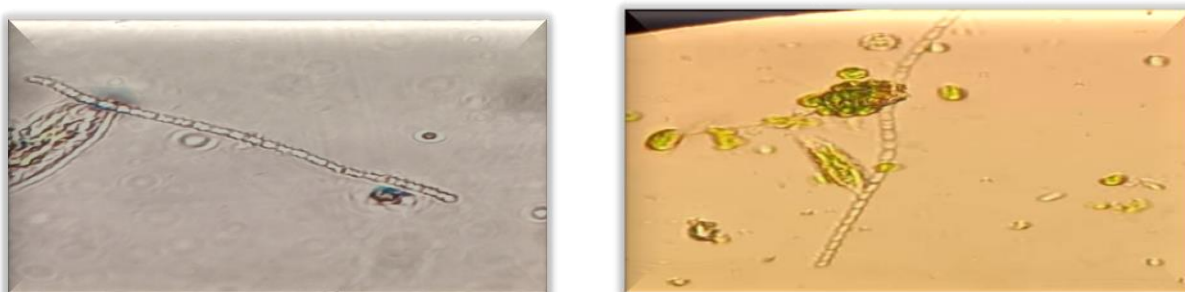


Figure 28: Observation microscopique de genre *Pseudoanabaena* à l'objectif 40 (originale, 2021).

○ *Merismopedia sp*

Après division cellulaire les cellules restent collées, et s'organisent les unes par rapport aux autres mais sans communication entre elles pour former une colonie. Ce genre se différencie du genre *Microcystis* par ses colonies plates tabulaires dont les cellules sont disposées régulièrement en rangées verticales et horizontales.

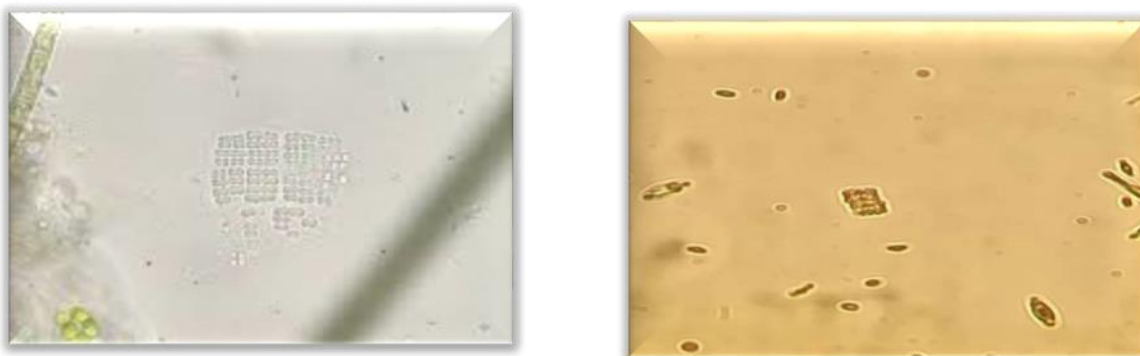


Figure 29 : Observation microscopique de genre *Merismopedia* à l'objectif 40 (originale, 2021).

○ *Spirulina sp*

Leur trichomes dépourvus de gaine sont solitaire, mobiles, régulièrement enroulés en hélice plus ou moins serrée. Les cloisons visibles dans les grandes formes sont pratiquement invisibles chez les petites espèces.

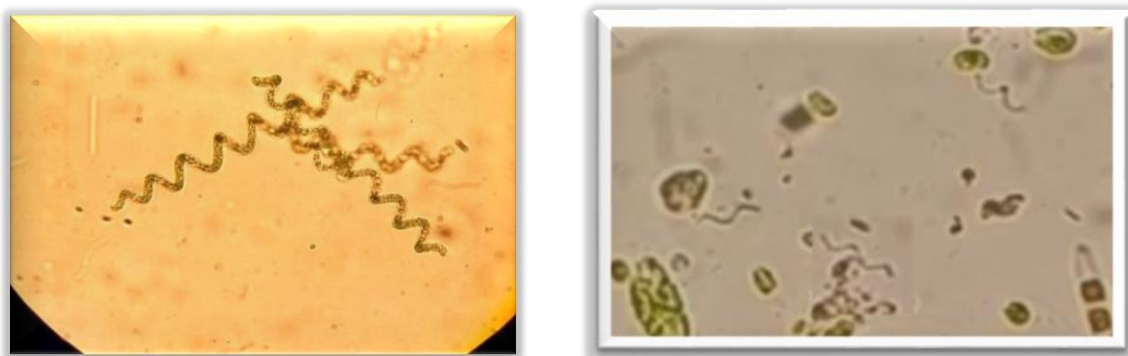


Figure 30: Observation microscopique de genre *Spirulina* à l'objectif 40 (Originale, 2021).

○ *Microcystis sp*

Les cellules sphériques sont groupées en colonies grâce à une gelée. Elles sont réparties plus ou moins régulièrement dans toute la gelée. Les colonies ont des formes très variées

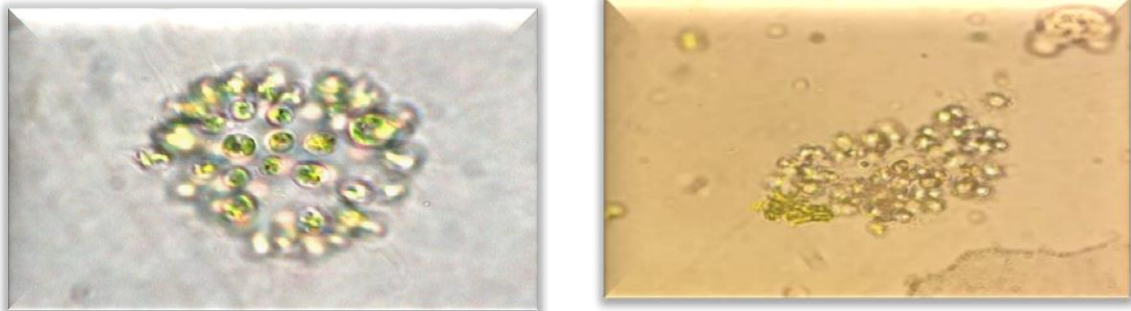


Figure 31: Observation microscopique de genre *Microcystis* à l'objectif 40

(Originale, 2021).

○ *Anabaena sp*

Les trichomes sont simples, réguliers, d'égale épaisseur, et présente des hétérocystes intercalaires plus ou moins nombreux. Les trichomes sont libres, sans gaines.

Les akinètes indispensables pour une détermination spécifique, sont solitaires ou en chaîne contiguë aux hétérocystes au contraire éloignés de ces derniers.



Figure 32 : Observation microscopique de genre *Anabaena* à l'objectif 40

(Originale, 2021).

○ *Chroococcus sp*

Les cellules *Chroococcus* sont des cellules ovoïdes ou en forme de tige d'un diamètre allant de 0,4 à 40 µm.



Figure 33: Observation microscopique de genre *Chroococcus* à l'objectif 40.

(Originale, 2021).

○ *Aphanizominon sp*

Les trichomes sont droits réunis le plus souvent en faisceaux flottant librement. Ils possèdent une gaine très diffuse difficilement visible. Les trichomes présentent des hétérocystes et se terminent par des cellules allongées un peu atténuées incolores et vacuolisées.

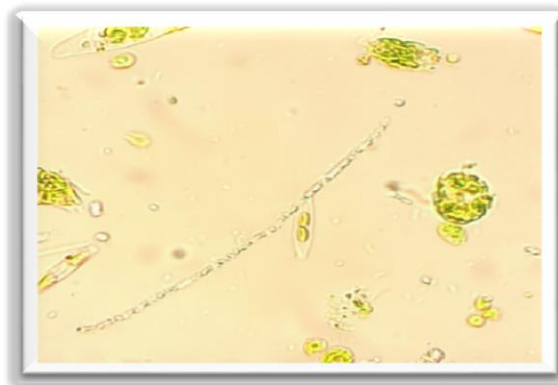


Figure 34 : Observation microscopique de genre *Aphanizominon* à l'objectif 40

(Originale, 2021).

○ Discussion

Les eaux douces incluent des systèmes d'eau ouverts tels que les lacs, oued et les rivières ou fermés tels que les barrages. Ces eaux contiennent des gaz dissous, des nutriments, des traces de métal et de composés organiques et inorganiques (Mackenzie et al, 2000). La présence de ces éléments favorise la prolifération de différentes cyanobactéries.

Les données de l'étude qualitative de cyanobactérie dans les neuf sites prospectés montrent l'existence de huit genres : *Oscillatoria sp*, *Aphanizommon sp*, *Microcystis sp*, *Pseudoanabaena sp*, *Spirolina sp*, *Merismopidia sp*, *Anabaena sp*, *Chroococcus sp*. De même, on a signalé la présence des espèces toxigènes dans les échantillons comme *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria* et *Microcystis* qui ont la capacité de produire des neurotoxines et hépatotoxines.

La production de toxines par certaines espèces de cyanobactéries permet de limiter et diminuer le broutage par le zooplancton et confère à ces espèces un avantage évolutif par rapport aux algues. (Jang et al, 2003).

I.3. Résultats des paramètres physique-chimique et distribution des cyanobactéries de site khneg

Fait apparaître que dans ce site nous avons marqué la présence de six genres de cyanobactéries *Oscillatoria*, *Microcystis*, *Pseudoanabaena*, *Anabaena*, *Aphanizommon*, en terme de densité numérique il y a des variations de densité d'un mois à l'autre et ceci due a plusieurs paramètres peut être des paramètres intrinsèque (capacité adaptation des espèces, performance productif...) ou condition extrinsèque (facteur physique-chimique).

Tableau 12 : Les paramètres physique-chimique et l'identification des cyanobactéries dans le site de Khneg pendant 4 mois.

Paramètre \ Mois	Décembre	Janvier	Février	Mars
T°	9	10,5	10,6	10
PH	6,54	6,23	7,56	7,13
Cond	826	774	689	632
MES	2700	6300	5200	5900
les cyanobactéries présentes dans l'eau				
<i>Oscillatoria sp</i>	35	28	195	546
<i>Microcystis sp</i>		196	217	742
<i>Pseudoanabaena sp</i>		14	42	266
<i>Anabaena sp</i>			7	
<i>Aphanizominon sp</i>			3	

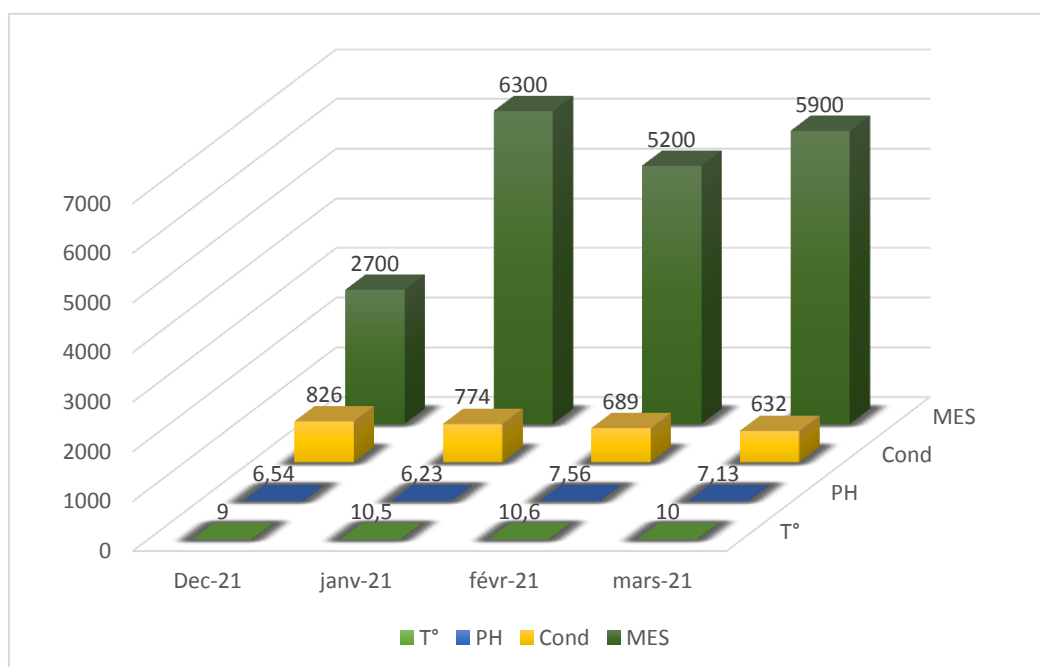


Figure 35 : Histogramme représente l'évolution des quatre paramètres physique-chimique étudiés dans le site Khneg pendant quatre mois.

D'après le graphe on peut constater que les cinq genres des cyanobactéries *Oscillatoria*, *Microcystis*, *Anabaena*, *Pseudanabaena*, *Aphanizomimon*. Ont été présente mais avec des fréquences différentes entre mois, et que le mois de février considéré comme le mois le plus diversifiés on terme d'aspect qualitative et on terme d'aspect quantitative le mois de mars représente des densités les plus élevés pour l'ensemble des genres.

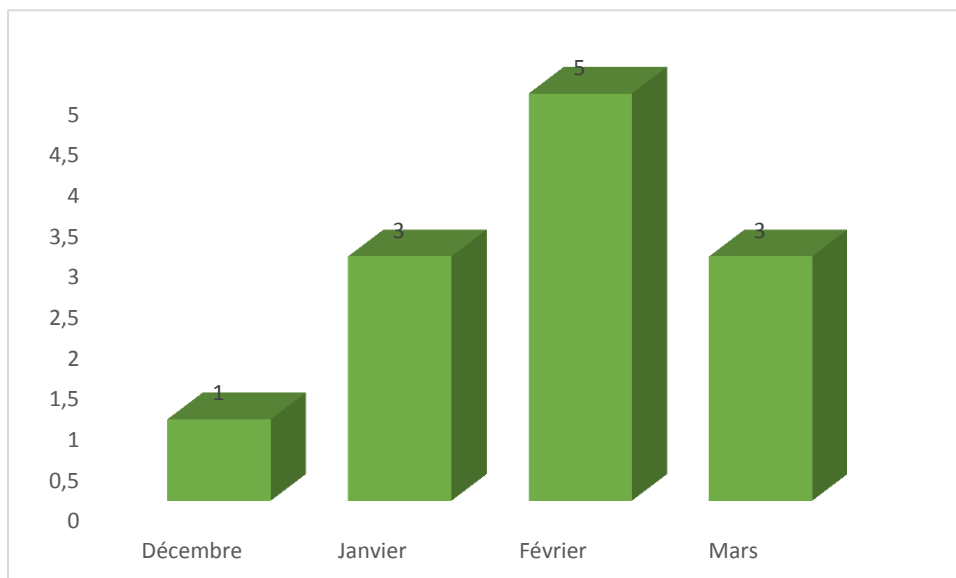


Figure 36 : Distribution des genres de cyanobactérie dans la marre de Khneg pendant quatre moi.

II. Les paramètres bactériologiques

Les analyses bactériologiques ont été effectuées au laboratoire de bactériologie au niveau de l'université d'Ammar Thlidji de Laghouat, cette étape était pour but d'évaluer la qualité microbiologique de l'eau de site de Khneg ainsi que l'isolement de la flore bactérienne. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau.

Ces analyses sont concerné seulement le site de Khneg.

II.1. Résultats de la recherche des coliformes

Ce sont les plus importants des paramètres microbiologiques pris en compte dans le contrôle de la qualité des eaux et leurs présences suffisent à confirmer qu'il y a effectivement une pollution. La limite idéale (0 coliformes fécaux par 100 ml), le site Khneg représente une charge élevé de coliforme dont les valeurs dépassent les normes acceptées.(Brisou, 1968).

Cette pollution est directement liée avec les apports des eaux de drainages contaminés.

Tableau 13:Résultats du dénombrement de la microflore de l'eau analysée.

Germes totaux	Germe revivable		Coliforme fécaux	Coliforme totaux
	à 37°C	à 22°C		
Dénombrement UFC/100ml	25	06	>240	24



Figure 37 : Résultats de test présomptif et confirmatif de coliforme totaux.

(Original 2021)

○ **Discussion**

Les eaux quelles que soient leur nature, contiennent une multitude de microorganismes des sources diverses tel que le sol, la végétation, le vent et les rejets issus de l'activité humaine.

II.2. Résultats de l'étude de la flore microbienne de l'eau

afin de déterminé Le nombre de colonie apparue après culture sur milieu solide parce que elles répond au nombre de cellule microbienne présentes dans le volume analysés de l'eau, nous avons préparé une série de dilution décimale et cultiver dans milieu ordinaire le résultat montre des nombres dépassé les normes dans les premiers dilutions le nombre de colonie retenue après culture doit être compris entre 30 et 300 colonies (Meyer et al, 2004)

Tableau 14 : Dénombrement les colonies isolées dans milieu ordinaire.

Dilution	Dénombrement	
	En surface	En masse
Solution mère	Indénombrable	440
10 ⁻¹	Indénombrable	268
10 ⁻²	201	88
10 ⁻³	143	83
10 ⁻⁴	91	76
10 ⁻⁵	65	34
10 ⁻⁶	62	23
10 ⁻⁷	22	17
10 ⁻⁸	14	12
10 ⁻⁹	5	10

II.3. Résultats de l'aspect macroscopique des colonies isolées

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après l'incubation. Pour obtenir une image claire sur les diversités des souches présentes dans cette culture.

Tableau 15 : Regroupe les résultats de l'examen macroscopique des différentes colonies isolées à partir de l'eau étudiée.

Souches	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Diamètre	3	4	1	1	2	3
Chromogènes	jaune	beige	rose	blanc	jaune	Blanc
Forme	ronde	ronde	ronde	ronde	ronde	ronde
Élévation	convexe	convexe	convexe	convexe	plate	convexe
Contour	régulière	irrégulière	régulière	régulière	régulière	irrégulière
Opacité	translucide	translucide	opaque	translucide	translucide	opaque
Surface	lisse	lisse	lisse	lisse	lisse	Lisse
Consistance	crémeuse	crémeuse	crémeuse	crémeuse	crémeuse	Crémeuse

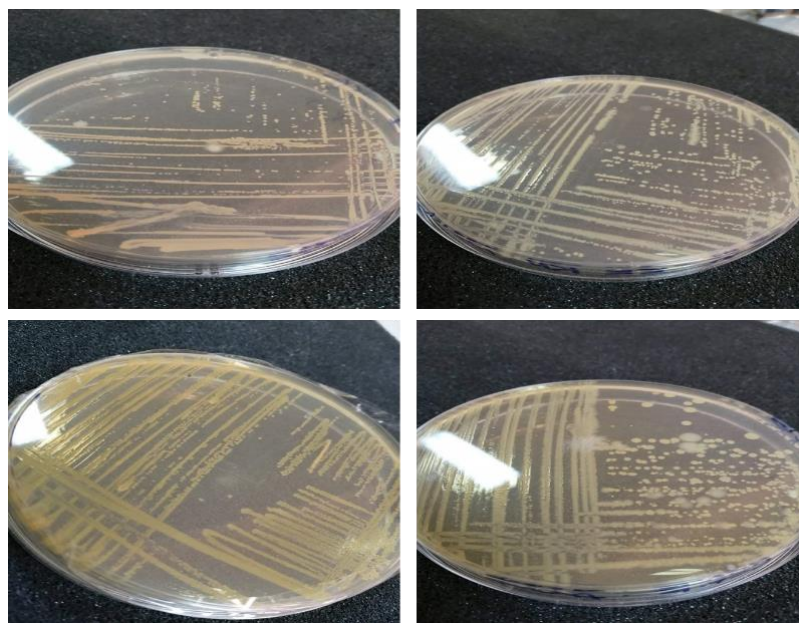


Figure 38 : Aspect macroscopique des souches isolées dans milieu ordinaire.

(Originale 2021).

II.4. Résultats d'aspect microscopique

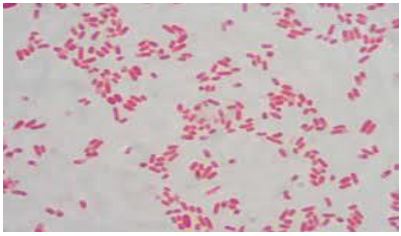

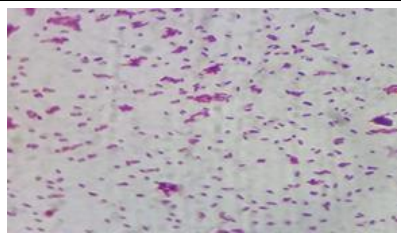
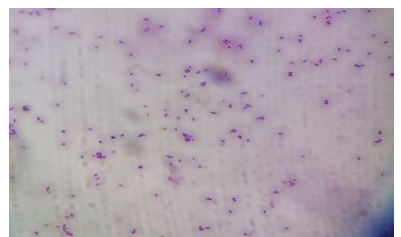
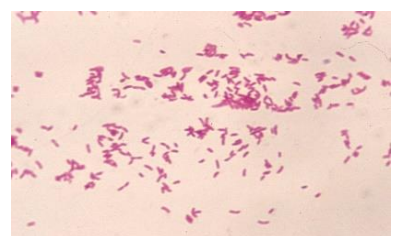

- **Coloration de Gram**

Les résultats montrent une variété de type bactérien. Les souches isolées ont des formes différentes : des bacilles, des coccobacilles et des Cocci. Elles sont assemblées en arrangement isolées. Elles présentent aussi une paroi de Gram positive ou négatives.

- **Discussion**

Technique de coloration de Gram permet de divisé les bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Tableau 16 : Résultat de coloration de Gram de 6 souches étudiées (S : souche).

Souches	Arrangement	Forme de cellule	Gram	Figure (originale 2021)
S1	Isolé	Bacille	-	
S2	Isolé	Bacille	+	
S3	Isolé	Coccobacille	-	
S4	Isolé	Cocci	-	
S5	Isolé	Bacille	-	
S6	Isolé	Cocci	-	

II.5. Résultats de croissance sur les milieux sélectifs

Le milieu Chapman est un milieu sélectif qui permet la croissance des germes à Gram positif, la souche S4 peut pousser sur ce milieu. Le milieu de King B permet la détection de la synthèse de pyoverdine, pigment élaboré par *Pseudomonas aeruginosa*. Et d'autres *Pseudomonas*. Utilisé en parallèle avec le milieu de King A (détection de la pyocyanine), il permet d'orienter l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*. La souche S5 peut pousser sur ces deux milieux. Le milieu Hektoen est un milieu sélectif de bacille Gram négatif les résultats sur ce milieu sont nulle aucune souche ne peut pousser dans ce milieu.

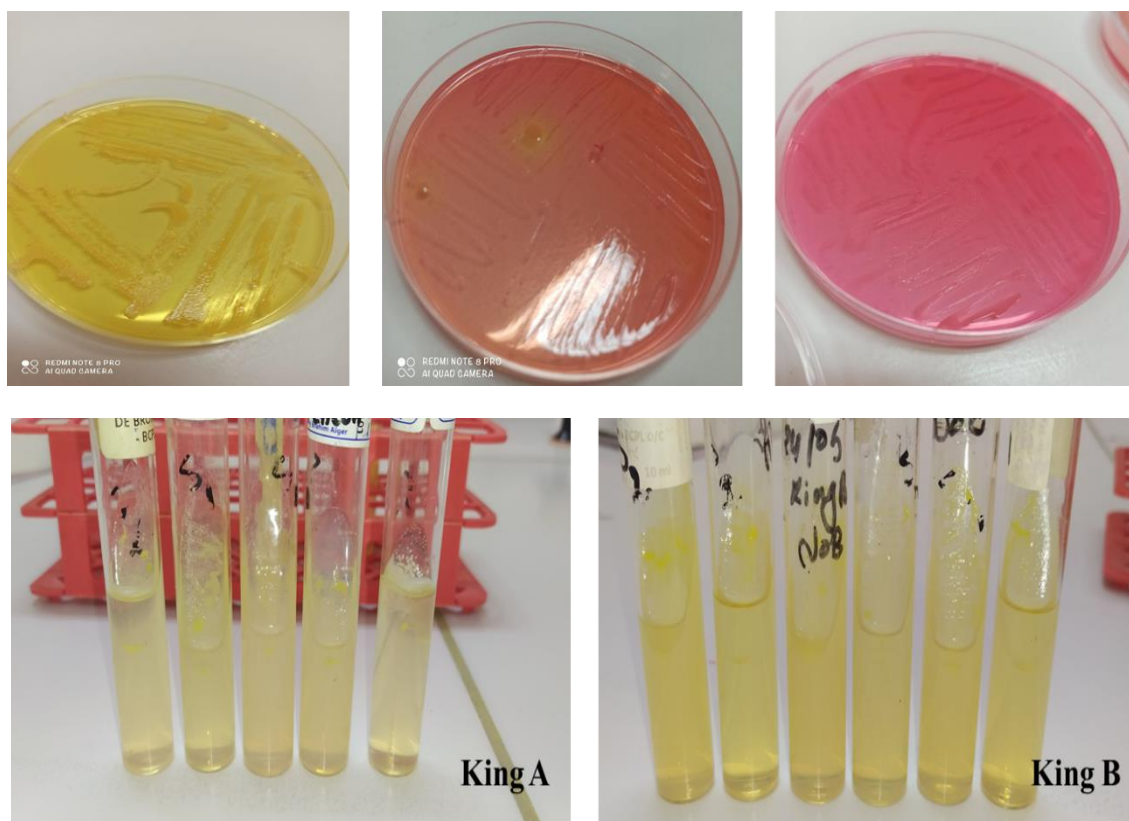


Figure 39 : Résultats de culture sur milieux sélectifs Chapman, King A et B.

(Original 2021)

II.6. Résultats de test de biodégradation

D'après les caractéristiques (colonies jaunes, contour plat, régulier, consistance crémeuse) de la souche S5 observée lorsqu'elle est isolée sur milieu GN, la souche a été purifiée en milieu King A et B, et un résultat positif a été obtenu, nous incitant à dire que

cette souche peut être apparentée au genre *Pseudomonas*. Le genre se caractérise par sa capacité à dégrader le phénol (Heinaru et al. 1999). À cette fin, nous avons adopté un test de biodégradation comme test d'identification.

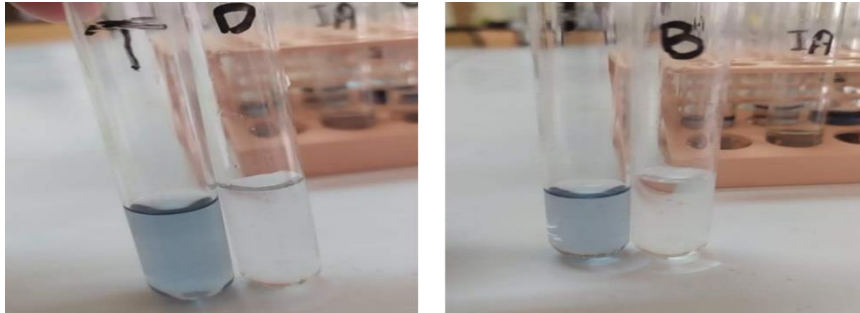


Figure 40 : Résultat de test de biodégradation de phénol. (Original 2021)

L'isolat bactérien a la capacité de biodégrader complètement le phénol comme seule source de carbone, cette capacité a été confirmée après un dosage colorimétrique d'un échantillon de la culture minérale.

II.7. Résultats des tests biochimiques

Tableau 17 : Résultats et interprétation de 20 test biochimique de la galerie API 20 E et les enzymes respiratoire de les deux souches étudiés.

Les souches Tests Biochimiques	S1	Interprétation	S3	Interprétation
ONPG	-		-	
ADH	-		+	décarboxylation de l'acide aminé arginine par l'arginine dihydrolase.
LDC	-		-	
ODC	-		-	
CIT	-		-	
H2S	-		-	
URE	-		-	
TDA	-		-	
IND	-		-	
VP	+	Mise en évidence de la production d'acétoïne.	+	Mise en évidence de la production d'acétoïne.
GEL	-		-	
GLU	-		-	
MAN	-		-	
INO	-		-	
SOR	-		-	
RHA	-		-	
SAC	-		+	fermenter le saccharose
MEL	-		-	
AMY	-		-	
ARA	-		-	
Catalase	+		+	
oxydase	-		-	

II.8. La galerie API 20E

D'après les résultats de 20 tests biochimiques de la galerie API 20 E réaliser à deux souches prédominant étudiées nous avons obtenir le code 000100 pour la souche S1 qu'identifier l'espèce *Pseudomonas horyzihabitans*. Et deuxième code 2001020 pour la souche S3 qu'identifier l'espèce *Pseudomonas luteola*.

○ Souche 1



Figure 41: Résultat obtenu après 24h d'inoculation de la Galerie API 20 E (souche 1).

Pseudomonas horyzihabitans, également connu sous le nom de *Flavimonas horyzihabitans*. Est une bactérie, non fermentée, Gram négative, aérobic strict et avec une oxydase négatif. (David et al, 1994).

Flavimonas oryzihabitans, bactérie de l'environnement humide, est rarement impliquée en pathologie humaine. Les infections dues cette bactérie surviennent le plus souvent chez des patients immunodéprimés ou porteurs de cathéters.(David et al, 1994).

- Souche 2



Figure 42 : Résultat obtenu après 24h d'inoculation de la Galerie API 20 E (souche 2).

(Original 2021)

Pseudomonas luteola. Qui était auparavant connu sous le nom de *Chryseomonas luteola*. Est un bacille à Gram négatif, aérobic, mobile et non sporulé. On le trouve fréquemment sous forme de saprophyte dans le sol, l'eau et d'autres environnements humides et est un agent pathogène opportuniste chez les patients présentant des troubles médicaux sous-jacents ou avec des cathéters à demeure. Il a été signalé comme une cause rare de bactériémie, de septicémie, d'arthrite septique, de méningite, d'endocardite et de péritonite. (Muharrem et al, 2016).

Conclusion

Conclusion :

La présente étude porte sur l'évaluation de la qualité de l'eau à partir d'indicateurs biotiques (bactéries et cyanobactéries) et abiotique (paramètres physico-chimiques).

Les résultats du suivi des paramètres physicochimiques montrent que, parmi l'ensemble des paramètres étudiés, seul la température et le pH qui présentent des valeurs presque les mêmes dans les neuf sites échantillonnés.

Les eaux analysées (de mare, de barrage et d'oued) sont considérées comme des eaux de distribution non traitée, cela peut expliquer la qualité microbiologique non acceptable pour la plupart des prélèvements. De plus la présence de germes pathogènes (coliformes totaux, coliformes fécaux) nous amènent à signaler le danger menaçant la santé du consommateur (mare).

Les résultats d'analyse microbiologique de l'eau de mare, de barrage et d'oued ont montré que leurs qualités en ce qui concerne le cyanobactérie peuvent être admissibles et ne présentent aucun danger pour la consommation.

Les données de l'étude qualitative de cyanobactérie montrent l'existence de huit genres essentielles : *Oscillatoria sp*, *Microcystis sp*, *Aphanizomimon sp*, *Pseudoanabaena sp*, *Spirolina sp*, *Merismopidia sp*, *Anabaena sp*, *Chroococcus sp*. De même, on a remarqué la présence des espèces toxigènes dans les échantillons.

*Références
bibliographiques*

A

1. **Afssa, 2006.** Rapport Commun De L'afssa Et De L'afsset. Risques Sanitaires Lies A La Présence De Cyanobacteries Dans L'eau. [Http://Www.Afsset.Fr/](http://www.afsset.fr/)
2. **Amblard C.,** Boisson C.J., Bourdier G., Fontvieille D., Gayte X. Et Simengando T., 1998. Ecologie Microbienne En Milieu Aquatique : Des Virus Aux Protozoaires. Rev. Sci. Eau N° Spécial : 145-162.
3. **Aminot, A.** And Chaussepied, M. (1983) Manuel Des Analyses Chimiques En Milieu Marin, 395 P.
4. **Amraniamina ,** Impacts Ecologiques Et Sanitaires De La Prolifération Massive Des Cyanobactéries Toxiques Sur La Faune Piscicole Et La Production Aquacole Dans Le Lac Oubeïra : Bioaccumulation Des Cyanotoxines Dans Les Poissons Et Risques Sanitaires Associés, These En Vue De L'obtention Du Diplome De Doctorat Université badji mokhtar –Annaba- 2015-2016
5. **Anagnostidis K.** & Komàrek J., 1990. Modern Approach To The Classification System Of Cyanophytes 5 - Stigonematales. Algol. Stud. 59: 1-73
6. **Angelier E., 2003.** Introduction A L'écologie. Des Ecosystèmes Naturels A L'écosystème Humain. Edit : Tec Et Doc, Paris. 230 P.
7. **Angelli N., 1980.** Interaction Entre La Qualité Des Eaux Et Les Eléments De Sonplancton. Gauthier Villars, Pp. 97- 146
8. **Arico, B, V.** SCARLATO D.M, MONACK S, FALKOW And RAPPOULI R. 1991. Structural And Genetic Analysis Of The Chlorella Species. Mol. Microbiol. 5: 2481-2491.
9. **Audrey Manet ,2016 ,** La Spiruline : Indications Thérapeutiques, Risques Sanitaires Et Conseils A L'officine , Université Grenoble Alpes Faculté De Pharmacie De Grenoble, 2015 -2016.

B

1. **Bared Razika.,** Boucheta Abbes., ChaibMessaoud., KacimiSoufi., 2010. Phenol and Benzoic Acid Degradation by Pseudomonas aeruginosa. Journal of Water Resource and Protection pp 788-791.
2. **Barnabé G. et Barnabé-Quet R., 1997.** Ecologie aménagement des eaux côtières. Lavoisier. P: 131,135,138.
3. **Becerra-celis, G. P., 2009.** Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgues dans un photobioréacteur continu. Thèse de Doctorat, Ecole
4. **Berger C. (2005).** *Cyanobactéries du Bas Delta du fleuve Sénégal: diversité, toxicité, toxines et risques associés.* Doctorat, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, 211 p.
5. **Blais S., 2003.** la problématique des cyanobactéries (algues bleu-vert) à la baie de Missisquoi en 2001. Agrosol, vol. 13. N° 2, pp. 103- 110.
6. **Blomqvist P., Pettersson A. et Hyenstrand P., 1994.** Ammonium-nitrogen: A key regulatory factor causing dominance of non-nitrogen –fixing Cyanobacteria in aquatic systems. *Arch. Hydrobiol.* **72** : 331-340.
7. **Botes, D.P.,** Wessels, P.L., Kruger, H., Runnegar, M.T.C., Santikarn, S., Smith, R.J., Barna, J.C.J., Williams, D.H., 1985. Structural studies on cyanoginosins-LR, -YR, -YA, and -YM, peptide toxins from *Microcystis aeruginosa*. J. Chem. Soc., Perkin Transactions 1, 2747-2748.)

8. **Bourelly P., 1985.** Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. III. Les algues bleues et rouges, les Eugléniens, Péridiniens et Cryptomonadines. 2e éd., Soc. Nouv. Ed. Boudée, Paris, 606 pp.
9. **Brisou, J.F., 1968.** *La pollution microbienne, virale et parasitaire des eaux littorales et ses conséquences sur la santé publique.* 38, 79-118

C

1. **C. DAVID, O. BAJOLET-LAUDINAT, O. BOUCHE, R. JAUSSAUD, L. BRASME et C. MADOLET., 1994.** *Flavimonas oryzihabitans* et hémocultures propos de deux observations. Muharrem Çiçek, GülşenHasçelik 1, H KaanMüştak, K Serdar Diker, Burçin Şener, 2016. Accurate diagnosis of *Pseudomonas luteola* in routine microbiology laboratory: on the occasion of two isolates, MikrobiyolBul
2. **Cadoret J. Et Bernard O., 2008.** La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis. Journal de la société de biologie ,vol 202 (3) : 201 – 211.
3. **Cantin I., 2010.** La production de biodiesel à partir des microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe. Maîtrise en environnement, Université de Sherbrooke, Québec, Canada, pp. 1 – 82.
4. **Carmichael et al., 2001** ; Carmichael W.W., Azevedo S.M., An J.S., Molica R.J., Jochimsen E.M., Lau S., Rinehart K.L., Shaw G.R., Eaglesham G. K., (2001). Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins, *Environ. Health Perspect.* 109, 663-668.
5. **Cecile Bernarda.,** Les cyanobactéries et leurs toxines , REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - MARS 2014 - N°460//P : 53- 68 , article reçu le 5 novembre 2013, accepté le 14 décembre 2013.)
6. **Champiat D. et Larpent J.P., 1994.** Biologie des eaux: Méthodes & Techniques, 2ème tirage. P : 24, 37, 39.
chemistry, and detection. In : Seafood and freshwater toxins :
7. **Chorus, I. and Bartram, J. 1999.** Toxic Cyanobacteria in Water: a Guide to Public Health Significance, Monitoring and Management. (Für WHO durch E et FN Spon/Chapman et Hall, London). pp .416.
8. **Codd G.A.,** Bell S.G. et Brooks W.P. (1989). Cyanobacterial toxins in water. *Water Science and Technology* 21: 1–13.
9. **Coute A. et Chauveau O., 1994.** Algae. *Encyclopedia Biospeologica*. I éd. Société de Biopédologie. ISSN 0398 7973, 3ème trimestre: 371-380
10. **Coute A., 1995.** Diversité chez les micro-algues. TSM; 01-1995, pp. 20-24

D

1. **Dabbadie L., 1992.** Cultures Intensives De Microalgues Sur Lisier De Porc: Performances, Contraintes, Utilisation Des Biomasses. Mémoire D'ingénieur Agronome De L'école Nationale Supérieure Agronomique De Montpellier, France, 125p.
2. **Dainippon. Ink And Chemicals Inc. 1980.** Production Of Highly Purified Alcoholophilic Phycocyanin. Japanese Patent 8077890.

3. **Dauta A. Et Feuillade J., 1995.** Croissance Et Dynamique Des Populations Algales. In : Limnologie Générale. Pourriot R. Et Meybeck M., Paris. Masson. Coll. Ecol. 25: 328 -350.
4. **Demay Justine** , Diversité Et Activités De Métabolites De Cyanobactéries Des Boues Thermales De Balaruc-Les-Bains , Thèses En Préparation A Paris, Muséum National D'histoire Naturelle , Dans Le Cadre De Ecole Doctorale Sciences De La Nature Et De L'homme - Evolution Et Ecologie (Paris) ,2018 .
5. **Deschenes, F., 2009.** Utilisation Des Microalgues Comme Source D'énergie Durable. Essai De Maîtrise En Environnement, Université De Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, 111 P.
6. **Dillon Jg, Miller S, Bebout B, Hullar M, Pinel N, Stahl Da. (2009)** Spatial And Temporal Variability In A Stratified Hypersaline Microbial Mat Community. FemsMicrobiol Ecol. 68(1):46-58.)

F

1. **Fay P, Van Baalen C.** Eds. The cyanobacteria. Elsevier, Amsterdam, 1987;534pp.
2. **Filali, 2012.** Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique du CO2. Ecolesupérieure d'Électricité / Supelec, Paris, 224 p.
3. **Frontier S., Picchod-viale. D., 1998.** Ecosystèmes. Structure, fonctionnement, évolution. 2e éd. Dunod. 447p
4. **Fsnv.univ-setif.dz** .<https://fsnv.univ-setif.dz/images/telecharger/BEV/20.pdf>

G

1. **Galet Philippe, Luc. B, JAN. J., 2009.** Bactériologie médicale tropicale, P .8.
2. **Ghobrini d. aiboud k. et yakoub-bougdal s., 2014.** Effect of red and far-red light on biomass productivity on Chlorella vulgaris cultivated on photobioreactor. BioTech 2014 and Czech-Swiss symposium, 11 – 14 Jun 2014, Praha Czech Republic.
3. **Gorenflot R. et Guern M., 1989.** Organisation et Biologie des Thallophytes. Doinédit. Paris. P: 196, 201.
4. **Gotaas H.B. 1959.** Compostage et Assainissement, Organisation Mondiale de la Santé, Genève.
5. **Groga, N., 2012.-** structure, fonctionnement et dynamique du phytoplancton dans le lac Taabo (côte d'ivoire).

H

1. **Hansen G., Turquet J., Quod J.P., TenHage L., Lugomela C., Kyewalyanga M., Hurbungs M., Wawiye P., Ogongo B., Tunje S. Et Rakotoarinjanahary H., 2001.** Potentially Harmful Microalgae Of The Western Indian Ocean. Manuals And Guides 41. P: 5, 79.
2. **Hébert, S. Et S. Légaré, 2000.** Suivi De La Qualité Des Rivières Et Petits Cours D'eau, 123, 24 P
3. **Hecker N., Costa L.T., Farinha J.C., & Tomas Vives P., (1996)** – Inventaire Des Zones Humides Méditerranéennes : Collecte Des Données. Publication Medwet/Wetlands International/Instituto Da Conservação Da Natureza. Volume Ii, 99p.
4. **Heinaru Eeva., Jaak Truu., Ulrich Stottmeister et Ain Heinaru., 1999.** Three

types of phenol and p-cresolcatabolism in phenol- and p-cresol-degradingbacteria isolatedfrom river water continuouslypollutedwithphenolic compounds FEMS MicrobiologyEcology 31 pp 195-205.

5. **Hoeger Sj**, Shaw G, HitzfeldBc, Et Al. Occurrence And Elimination Of Cyanobacterial Toxins In Two Australian Drinking Water Treatment Plants. *Toxicon* 2004;43:639-49.
6. <https://fsnv.univ-setif.dz>
7. <https://planet-terre.ens-lyon.fr/ressource/img492-2015-04-06.xml>
8. <https://slideplayer.fr/slide/13343095/>
9. <https://www.istockphoto.com/fr/photos/algues-vertes?mediatype=photography>

J

1. **Jang M, Ha K, Joo G, Takamura N, 2003.** Toxine production of cyanobacteria is increased exposure to zooplankton. 1540-1550pp.
2. **John, D.M., 1994.** Alternation of generations in algae: its complexity, maintenance and evolution. *BiologyReview*. 69: 275-291p.
- 3.

K

1. **Komarek J. & Anagnostidis K., 1986.** Modern approach to the classification system of cyanophytes; 2- Chroococcales. *Algological Studies*, 43 : 157-226.
2. **Komarek J. & Anagnostidis K., 1989.** Modern approach to the classification system of cyanophytes. 4-Nostocales. *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 82(3):247-345.
3. **Komarek J. & Anagnostidis K., 1998.** Cyanoprokaryota. 1. TeilChroococcales. in: von Milleuropa. 19/1, Mollenhauer, D., Fisher, Stuttgart-Jena, 548 pp.
4. **Komarek J. & Anagnostidis K., 2005.** Cyanoprokaryota. 2. TeilOscillatoriales. in: Süßwasserflora von Milleuropa. 19/2, Mollenhauer, D., Stuttgart-Jena, pp.
5. **Komarek J., 1991.** A review of water-bloom forming *Microcystis* species, with regard to populations from Japan. *Algological studies*, 64: 115-127

L

1. **Labres et Mouffok F., (2008).** Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel de travaux pratiques des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. 53p.
2. **Larpent J.P.** et Larpent-Gourgaud M., 1997. *Mémento technique de microbiologie*. 3^{ème} édit. Paris. P: 245, 246.
3. **Lehtimäki, J., Sivonen, K., Luukainen, R. and Niemela, S.I. (1994).** The effects of incubation time, temperature, light, salinity, and phosphorus on growth and hepatotoxin production by *Nodularia* strains. *Archiv fur Hydrobiologie*, vol. 130, n° 3, p. 269-282.

M

1. *ème édition ; p 118*
2. **Mann K.H. et Lazier J.R.N., 1966.** Dynamics of marine's ecosystems. Blackwell Science Inc. P: 394.

3. **Marchal N.,j.l.** Bourdon., cl. Richard., 1991. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries, 4 ème édition, p 32, 39, 264, 293, 294, 269, 270, 261, 262, 263, 265, 266, 230, 117, 118, 104, 105
4. **Margalef R., 1984.** Le plancton de la Méditerranée. La recherche 158(15) : 1082-1094
5. **Margalef R., 1984.** Le plancton de la Méditerranée. La recherche 158(15) : 1082-1094
6. **Mélanie Ouellet** ,écotoxicologie des toxines des cyanobactéries , centre universitaire de formation en environnement université de sherbrooke ,2012
7. **Meyer Alphones., Deiana. J, Bernard. A., 2004.** *Cours de microbiologie générale ; 2*
8. **Meyer Alphones., Deiana. J, Bernard. A., 2004.** Cours de microbiologie générale ; 2 ème édition ; p 118
9. **Mur L.R., Skumberg O.M. & Utkilen H., 1999.** Cyanobacteria in the Environment. In : Chorus, I. et Bartram, J. (Eds.). Toxic Cyanobacteria in water. A guide to their public Health consequences, monitoring and management. *WHO Ed. E & FN SPON*, pp 41-111.

N

1. **Nabors, I. O. B. (2004).** Alternative sweeteners. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 15(4), 39-41.
2. **Nasri H, 2001.** Etude de la dynamique spatio-temporelle et des paramètres de croissance des cyanoprocaryotes toxiques. Dans un milieu d'eau douce (cas du barrage chéffia), thèse de magister. Univ d'Annaba, 78pp.
3. **Ngansoumana BA., 2006.** La communauté phytoplanctonique du lac de Guiers (Sénégal) : types d'associations fonctionnelles et approches expérimentales des facteurs de régulation. Thèse Doc. 3e cycle. Univ. cheikhAnta Diop Dakar (Sénégal) 155p.

O

1. **Orr PT, Jones GJ, Hamilton GR.** Removal of saxitoxins from drinking water by granular activated carbon, ozone and hydrogen peroxide - implications for compliance with the Australian drinking water guidelines. *Water Res* 2004;38: 4455-61.
2. **Ouarda Amrani ., AbdElmadjid Chehema -** Plantations d'Atriplex canescens en vue de la restauration des parcours dégradés en steppe algérienne. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. Accepté 20 avril 2020
3. **Oudra B., M. Loudiki, B. Sbiyyaa, R. Martins, V. Vasconcelos et M. Namikoshi (2001).** Isolation, characterization and quantification of microcystins (heptapeptides hepatotoxins) in *Microcystis aeruginosa* dominated bloom of Lalla Takerkoust lake reservoir (Morocco). *Toxicon.*, 39, 1375–81.

P

1. **Pascaud M. 1993.** The essential polyunsaturated fatty acids of spirulina and our immune response. *Bull. Inst. Oceano. Monaco*. 12: 49-57.
2. **Pattanaik, B., Wulff, A., Roleda, M.Y., Garde, K. and Mohlin, M. (2010).** Production of the cyanotoxin nodularin-A multifactorial approach. *Harmful Algae*, vol. 10, n° 1, p. 30-38.
3. **PERSON J., 2010.** Livre turquoise – Algues, filières du futur. Édition Adebitech, Romainville, 163 p.

4. **Pharmacology**, physiology and detection. Botana LM (Ed), Marcel Dekker, New York, 2000: 567-582
5. **Pierre Bourrelly**, Jean Claude LEFEUVRE, « cyanobactéries ou cyanophycées, anc.algues bleues », *Encyclopædia Universalis*[en ligne], consulté le 18 avril 2020.
6. **Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A., 1995.** Microbiologie. 1er édit. Bruxelles. P: 536.
7. **Probul.fr/application/solutions-lutter-contre-cyanobacteries/**

R

1. **Rafiqul I.M., Jalal K.C.A. et Alam M.Z., 2005.** Environmental Factors for Optimization of Spirulina Biomass in Laboratory Culture. *Biotechnology* 4 (1): 19-22.
2. **Rapala, J. and Sivonen, K. (1998).** Assessment of environmental conditions that favor hepatotoxic and neurotoxic *Anabaena* sp. strains cultured under light limitation at different temperatures. *Microbial Ecology*, vol. 36, n° 2, p. 181-192.
3. **Rapala, J. Sivonen, K., Luukkainen, R. and Niemela, S.I. (1993).** Anatoxin-a concentration in *Anabaena* and *Aphanizomenon* under different environmental conditions and comparison of growth by toxic and non-toxic *Anabaena*-strains - A laboratory study. *Journal of Applied Phycology*, vol. 5, n° 6, p. 581-591.
4. **Rapala, J., Sivonen, K., Lyra, C. and Niemelä, S.I. (1997).** Variation of microcystins, cyanobacterial hepatotoxins, in *Anabaena* sp. as a function of growth stimuli. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 63, n° 6, p. 2206-2212.
5. **Rejsek F. (2002).** Analyse des eaux : Aspects réglementaires et techniques. Edition canopé – CRDP de bordeaux. France. 360p.
6. **Rejsek, F., (2002)** –Analyse des eaux, Aspects réglementaire et techniques. Série : Sciences et techniques de l'environnement, 360p
7. **Rellan S, Osswald J, Saker M.** First detection of anatoxin-a in human and animal dietary supplements containing cyanobacteria. *Food Chem Toxicol* 2009;47:2189-95
8. **Reynolds C.S., 1998.** What factors influence the species composition of phytoplankton in lakes of different trophic status . *Hydrobiologia*. 11 (26): 369-370.
9. **Rippka R., 1988.** Recognition and identification of Cyanobacteria. *Methods Enzymol.*, 167, 28-68
10. **Riviers B., 2003.** Biologie et phylogénie des algues. Tome : 2. Edit : Belin, 255p.
11. **Rodier J. (1984).** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, 7e Édition, 134 p
12. **Rodier J. (2005).** L'analyse de l'eau : L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mers. 8ème édition : Dunod , Paris. France. 1381p.
13. **Rodier J., Bazin C., Broutin J.P., Chambon P., Champsaur H. & Rodi L., (2005)** - l'analyse de l'eau : eaux naturelle, eau résiduaires et l'eau de mer. 8ème Ed. Dounod, paris : 1383p.
14. **Roger. 2016** <https://cyanobacteries.pagespersoorange.fr/pages/Morphologie/Morphologie.htm>
15. **Roger P.A., 1996.** Biology and Management of the Flood water Ecosystem in Rice fields. IRRI. Editor William H. Smith. P: 132.
16. **Rosowski, J.R., 2003.** Photosynthetic Euglenoids. Dans : *Freshwater Algae of North America : Ecology and Classification*. Wehr, J.D. et Sheath, R.G. (eds). Academic Press, Paris .

S

1. **Salemkour, N.** ; Aidoud, A. ; Chalabi, K. et al., Évaluation des effets du contrôle de pâturage dans des parcours steppiques arides en Algérie, *Revue d'écologie*, 2016, 71, 2, pp. 178-191
2. **Santillon C. 1974.** Cultivation of the Spirulina for the Human Consumption and for Animal Feed. International Congress of Food Science and Technology. September. Madrid Spain.
3. **Sharma n. K. Et rai a. K., 2011.** Biodiversity and biogeography of microalgae: progress and pitfalls. *Environmental Reviews*, 19 (1) : 1 – 15.
4. **Sialve b., steyer j-p., 2013.** Les microalgues, promesses et défis. *Innovations Agronomiques*, 26 : 25-39.
5. **Sivonen K et Jones J. (1999).** Cyanobacterial toxins. In: Chorus I, Bartram J [eds.], *Toxic cyanobacteria in water: A guide to public health significance, consequences, monitoring and management* , 41–111. E&FN SPON, London.
6. **Sivonen K.** Freshwater cyanobacterial neurotoxins : Ecobiology,
7. **Smith, V. H., Tilman, G. D., & Nekola, J. C. (1999).** Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems [archive. *Environmental pollution*, 100 , 179-196
8. **SOURNIA A.,(1978).** Phytoplankton manual. Monographs on oceanographic methodology. N° 6, UNESCO. Paris p 337
9. **Stickney H.L., Hood R.R. et Stoecker D.K., 2000.** The impact of mixotrophy on planktonic marine ecosystems. *Ecol. Model.* 125 (2-3): 203-203.
10. **Stumm W. et Morgan J.J., 1996.** Aquatic Chemistry: Chemical equilibrium and rates in natural Waters. Wiley. Inter. Science. Publication. Third edition. P: 1024.
11. **Subhadra b. Et Edwards m, 2010.** An integrated renewable energy park approach for algal biofuel production in United States. *Energy Policy* 38, 4897.

T

1. **Trégouboff G. et Rose M., 1957.** Manuel de planctonologie méditerranéenne. Tome 1. CNRS, P: 128.

V

1. **van Apeldoorn ME,** van Egmond HP, Speijers GJA, et al. Toxins of cyanobacteria. *Mol Nut Food Res.* 2007;51:7-60.
2. **Van der Westhuizen, A.J. and Eloff, J.N. (1985).** Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Planta*, vol. 163, n° 1, p. 55-59.
3. **Vaquer A., Pons V., Lautier j. 1997.** Distribution spatio-temporelle du phytoplancton dans le réservoir de Petit-saut (Guyane française). *Hydroecol. Appl.* Tome 9, Vol. 1-2, pp 169-193.

W

1. **Walter K, Dodd et al. 2000** , Control of Nitrogen Export from Watersheds by Headwater , 292 , 86 89

2. **Waterhouse Andrew.,** 2010. Folin-Ciocalteau Micro Method for Total Phenol in Wine, *Methods in Enzymology* pp 152-178
3. **Wetzel Gene E. Likens.,** Composition and Biomass of Phytoplankton *Limnological Analyses* pp 147-174
4. **Whitton BA.** Ecology of Cyanobacteria II : Their diversity in space and time. Eds Springer. 2012:759pp.
5. **www.Microbiologie-medicale.fr**

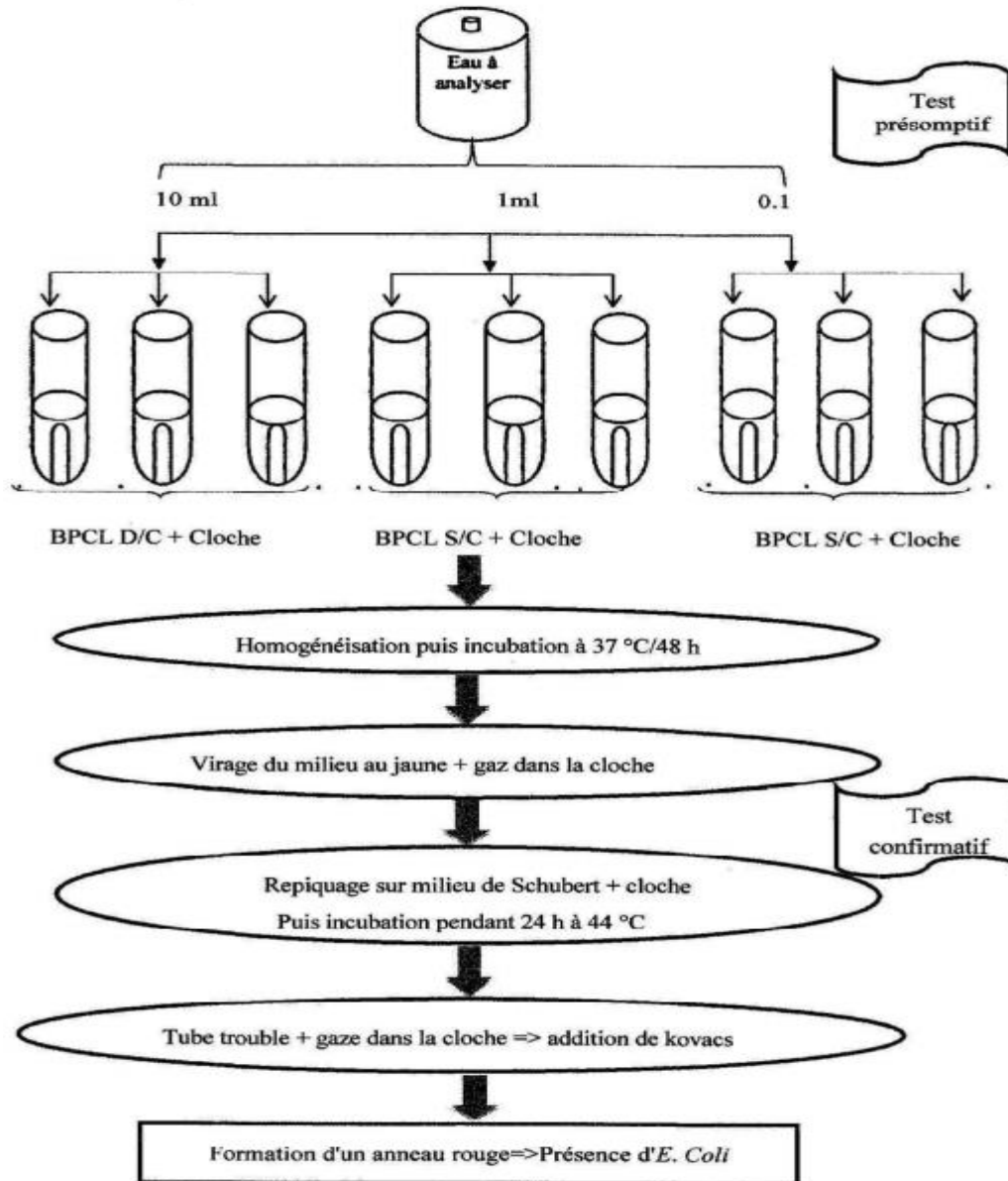
Z

1. **Zeitzschel B., 1978.** Phytoplankton manual: Monographs on oceanographic methodology- Unesco: 1- 6.

Annexes

Annexe 1 :

1. Recherche et dénombrement des bactéries coliformes :
Méthode de dénombrement en milieu liquide par détermination du nombre le plus probable (NPP) :



Annexe 2 : Composition des milieux de cultures

1. Tryptophane Glucose extrait d'AGAR (TGEA)

Tryptophane	5g
Glucose	1g
Extrait de levure	2.5g
Eau distillée	1000ml
PH	7.21
Autoclavage de milieu	120°C pendant 15 min

2. Milieu indole mannitol : Schubert

Tryptone	0.2g
Sulfate de magnésium	0.7g
Acide glutamique	0.2g
Sulfate d'ammonium	0.4g
Citrate de sodium	0.5g
Chlorure de sodium	2.0g
Mannitol	7.5g
Eau distillée	500ml
Tampon phosphaté	500ml
PH	7.2
Autoclavage de milieu	115°C pendant 10 min

3- Bouillon lactosé au propre de Bromocrésol (BCPL) :

Peptone **5,0 g**

Extrait de viande de bœuf	3,0 g
Lactose	10,0 g
Pourpre de bromocrésol	25 mg
Agar	15 g
pH	6,8
Autoclavage de milieu	115 °C pendant 20 min

4- Gélose Chapman :

Peptone **10 g**

Extrait de bœuf	1 g
Chlorure de sodium	75 g
D-mannitol	10 g
Rouge de phénol	25 mg
Agar	15 g
PH	7,4
Autoclavage de milieu	121° C pendant 15 min

5- Gélose nutritive (GN) :

Extrait de viande **1,0 g**

Extrait de levure	2,5 g
Peptone	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar-agar	15,0 g
pH	7,0

Autoclavage de milieu	120 °C pendant 20 mn
------------------------------	-----------------------------

6- Gélose Hektoen :

Peptone	12,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Lactose	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Salicine	2,0 g
Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H₂S	1,5 g
Sels biliaires	9,0 g
fuchsine acide	0,1 g
Bleu de bromothymol	0,065 g
chlorure de sodium	5,0 g
Thiosulfate de sodium	5,0 g
Agar	14,0 g
PH	7,5
Autoclavage de milieu	ne pas autoclaver

7- Milieu King A :

Peptone dite "A" : 20,0 g

Glycérol	10,0 g
Sulfate de potassium	10,0 g
Chlorure de magnésium	1,4 g
Agar purifié	12,0 g
PH	7,2
Autoclavage de milieu	15 minutes à 121°C

7- Milieu King B :

Peptone dite "B" 20,0 g

glycérol	10,0 g
Hydrogénophosphate de potassium	1,5 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	1,5 g
agar purifié	12,0 g
PH	7,2
Autoclavage de milieu	15 minutes à 121°C

Annexe 03 : Tableau de lecture de la galerie Api 20E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitrophenylgalactoside	Beta-galactosidase	incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / Immédiat	
			jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND / 2 mn, maxi	
			jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune