

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre  
et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière : sciences biologiques

Spécialité/Option: Biologie Moléculaire et Cellulaire

Département: Science de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers

Thème

**ETUDE PHYSICOCHIMIQUE ET BACTERIOLOGIQUE DES  
EAUX DE MER POLLUEES**

**"ZONE INDUSTRIELLE DE SKIKDA"**

Présenté par :

**BOUCHECHE Bochra**

**BOUKHAROUBA Manel**

**GUERRICHE Amira**

Devant la commission composée de :

Président :	DRIF Fahima	M.C.A.	Université de Guelma
Examineur :	ROUAIGUIA Meriem	M.C.B.	Université de Guelma
Encadreur :	KHALLEF Massouda	M.C.A.	Université de Guelma

Septembre 2020

## REMERCIEMENTS

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui on voudrait témoigner toute nos gratitude.

Tout d'abord, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour la force et la volonté qu'il nous a donné pour mener à bien ce modeste travail.

Nous tenons à remercier sincèrement notre directrice de mémoire **Dr. KHALLEF M.** pour nous avoir confié ce thème,

Pour les connaissances qu'elle a su nous transmettre,  
Pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils.

Nous remercions vivement les membres du jury,

**Dr. DRIF F.**, Maitre de conférences A,  
qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de Master.

**Dr. ROUAIGUIA M.**, Maitre de conférences B,  
pour avoir accepté d'être examinatrice de ce travail.

Nous remercions également l'ensemble des enseignants de la faculté de science de la nature et de la vie de l'université 8 Mai 1945- Guelma.

Ainsi à toute l'équipe de techniciens de laboratoire d'université pour son aide et la qualité de ses conseils.

Enfin, nos vifs remerciements au **Mr Rabah**, **Mr Seif** et **Mme Imen** pour leurs chaleureux accueils au sein du laboratoire d'analyses physico-chimiques d'unité de DRIK-SONATRACH-SKIKDA, un grand merci pour sa confiance, ses conseils et ses remarques.

## **DEDICACES**

*A mes chers parents,*

*Qui m'ont transmis courage et ténacité, qui m'ont toujours porté pour mener à bien mes études, qui ont su m'épauler et me guider tout au long de ces années,*

*A mes très chers frères, toute ma famille et amies merci d'être toujours présent pour moi.*

*A tous ceux et celles qui m'ont encouragé, entourés de leur soutien durant les moments difficiles avec tant d'amour et de compréhension*

*Amira*

## **DEDICACES**

*Je dédie ce modeste travail, à mes parents, pour leurs Sacrifices  
et encouragements à mon égard, que Dieu leur accorde une  
longue vie*

*A mes sœurs et mes frères et toute(s) mes cousine(s).*

*A tous mes amis Spécialement Amira qui a partagé avec moi les  
bons et les durs moments.*

*A toute personne qui a contribué à la réalisation de ce travaille  
de près ou de loin.*

*« Je vous merci, merci, merci »*

*Bochra*

## DEDICACES

***Au nom de Dieu le très miséricordieux, le tout miséricordieux.***

***Je dédie ce modeste travail à :***

***Mes chers parents, merci d'avoir toujours été là pour moi. Merci pour vos prières. Merci pour votre soutien inconditionnel dans tous les projets que j'ai pu entreprendre. Pour m'avoir toujours supporté moralement. Merci d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir poussé chaque jour en avant. Je vous aime infiniment.***

***Mon cher grand frère, qui est parti très tôt de ce monde mais encore partout dans le mien. Mon cher frère, je voudrais te dire échappe-toi du ciel un moment et viens me donner un câlin, pour que ma joie soit impeccable. Tu resteras toujours vivant au plus profond de mon être.***

***Mes chers frères et sœurs, qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir, merci pour tout. Pour votre aide, pour votre patience, pour votre présence, vous êtes le pilier sur lequel je m'appuie.***

***A toute ma famille pour leurs encouragements, tout au long de mon parcours universitaire.***

***Mes chères amies que j'aime et qui m'aiment.***

*Manal*

## RESUME

Le littoral de Skikda qui est à proximité de zone industriel SONATRACH est exposé à la pollution, y compris celle des hydrocarbures, de plastique et des métaux lourds. La diminution de taux de ces polluants industriels dans la mer nécessite la résistance des microorganismes pour être capables de les dégrader. L'objectif de notre travail est l'identification des microorganismes (bactéries et champignons) résistants et biodégradant des rejets industriels dans l'eau de mer polluée. Les analyses physicochimiques de plusieurs paramètres nous montrent une existence d'une pollution dans les deux zones d'étude qui a été estimée par le taux élevé de la turbidité, la conductivité, MES ainsi qu'à l'O<sub>2</sub> dissous dépassant les normes. Alors que les analyses microbiologiques ont donné lieu à la collecte de deux espèces fongiques distinctes, l'identification de ces microorganismes a permis de les rapprocher à *Aspergillus nidulans* et *Aspergillus versicolor*, deux champignons réputés pour leurs nombreuses applications dans différents domaines biotechnologiques. Tandis que le dénombrement des bactéries en UFC/ml n'a pas dépassé la valeur limite de 10<sup>5</sup> de nombre de bactéries naturelles d'eau de mer. Cette étude montre clairement la présence de certains microorganismes qui ont été sélectionnés pour leurs meilleures capacités à se développer dans des zones contenant des différents polluants industriels.

**Mots clés** : biodégradation, microorganismes, eaux de mer, pollution, polluants industriels, paramètres physicochimiques.

## ABSTRACT

Skikda's littoral, which is close to the SONATRACH industrial zone, is exposed to pollution, including oil, plastic and heavy metals. Reducing the levels of these industrial pollutants in the sea requires the resistance of microorganisms to be able to degrade them. The aim of our work is to identify microorganisms (bacteria and fungi) that are resistant and biodegradable to industrial discharges into polluted seawater. Physicochemical analyses of several parameters show us an existence of pollution in both study areas that was estimated by the high turbidity rate, conductivity, MES as well as dissolved O<sub>2</sub> exceeding standards. While microbiological analyses have resulted in the collection of two distinct fungal species, the identification of these microorganisms has made it possible to reconcile them with *Aspergillus nidulans* and *Aspergillus versicolor*, two mushrooms known for their numerous applications in different biotechnological fields. Whereas the count of bacteria in UFC/ml did not exceed the limit value of 10<sup>5</sup> of the number of natural seawater bacteria. This study clearly shows the presence of certain microorganisms which have been selected for their best ability to develop in areas containing different industrial pollutants.

**Keywords** : biodegradation, microorganisms, seawater, pollution, industrial pollutants, physicochemical parameters.

## ملخص

يتعرض ساحل سكيكدة القريب من المنطقة الصناعية سوناطراك للتلوث، بما في ذلك النفط والبلاستيك والمعادن الثقيلة ويتطلب خفض مستوى هذه الملوثات الصناعية في البحر مقاومة الكائنات الحية الدقيقة لكي تتمكن من تحليلها. الهدف من عملنا هو تحديد الكائنات الحية الدقيقة (البكتيريا والفطريات) المقاومة الكائنات الحية الدقيقة لكي تتمكن من تحليلها. الملوثات. توضح لنا التحليلات الفيزيائية والكيميائية لعدة عوامل وجود تلوث في منطقتي الدراسة التي تم تقديرها بمعدلات عالية من التعكر، التوصيل الكهربائي، المواد العالقة وكذلك الاكسجين المذاب الذي يتجاوز المعايير. في حين أسفرت التحليلات الميكروبيولوجية عن جمع نوعين من الفطريات المتميزة، فتحديد هذه الكائنات الدقيقة جعل من الممكن ربطها ب مجالات التكنولوجيا الحيوية المختلفة. بينما العد البكتيري UFC / ml لم يتجاوز القيمة الحدية البالغة  $10^5$  لعدد بكتيريا مياه البحر الطبيعية، تظهر هذه الدراسة بوضوح وجود بعض الكائنات الحية الدقيقة التي تم اختيارها لتحسين قدرتها على التطور في مناطق تحتوي على ملوثات صناعية مختلفة.

**الكلمات المفتاحية :** التحلل البيولوجي، الكائنات الحية الدقيقة، مياه البحر، التلوث، ملوثات صناعية، المعلمات الفيزيائية والكيميائية.

## ABREVIATIONS

**S** : Salinité

**t** : température

**P** : Pression

**Pa** : Pascal

**Na Cl** : Chlorure de Sodium

**Cl<sup>-</sup>** : Ion Chlorure

**Na<sup>+</sup>** : Ion Sodium

**SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>** : Ion Sulfate

**Mg<sup>2+</sup>** : Ion Magnesium

**Ca<sup>2+</sup>** : Ion Calcium

**K<sup>+</sup>** : Ion Potassium

**HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>** : Hydrogénocarbonate

**CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>** : Carbonate

**Br<sup>-</sup>** : Ion Bromure

**Sr<sup>2+</sup>** : Ion Strontium

**B<sup>3-</sup>** : Bore Total

**F<sup>-</sup>** : Ion Fluorure

**N<sub>2</sub>** : Azote

**O<sub>2</sub>** : Oxygène

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de Carbone

**TDS** : Totales des Solides Dissous

**°C** : Degré Celsius

**pH** : Potentiel Hydrogène

**H<sup>+</sup>** : Ion d'Hydrogène

**OD** : Oxygène Dissous

**MES** : Matières En Suspension

**DBO** : Demande Biologique en Oxygène

**DBO<sub>5</sub>** : Demande Biologique en Oxygène pendant 5 jours

**DCO** : Demande Chimique en Oxygène

**OMI** : Organisation Maritime Internationale

**HAP** : Hydrocarbure Aromatique Polycyclique

**PBT** : Persistant Bioaccumulable et Toxique

**PEHD : Poly Ethylène à Haute Densité**

**UV : Ultra-Violet**

**VBNC : Bactérie Viable Non Cultivable**

**Hg<sup>+</sup> : Mercure**

**COD : Carbone Organique Dissous**

**DRIK : Direction Régionale de la zone Industrielle de Skikda**

**CP2K : Complexe de Production de Polyéthylène à haute densité**

**NTU : Unité Néphélométrie de Turbidité**

**μS/cm : Micro Siemens par Centimètre**

**UFC : Unité Formant Colonies**

# SOMMAIRE

Résumé

Abstract

ملخص

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

## PARTIE I

### SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre 1 : généralités sur les eaux de mer

1. Les eaux de mer ..... 2

1.1. Propriétés des eaux de mer ..... 2

1.2. Paramètres des eaux de mer ..... 5

#### Chapitre 2 : pollution des eaux de mer

1. Pollution des eaux de mer ..... 7

1.1. Sources de pollution ..... 8

1.1.1. Pollution urbaine ..... 8

1.1.2. Pollution d'origine agricole ..... 8

1.1.3. Pollution d'origine marine ..... 8

1.1.4. Pollution industrielle ..... 8

1.2. Types de pollution ..... 9

1.2.1. Pollution physique ..... 9

1.2.2. Pollution chimique ..... 10

1.2.3. Pollution microbiologique ..... 10

<b>1.3. Indicateurs de pollution .....</b>	<b>11</b>
<b>1.3.1. Indicateurs physiques et chimiques .....</b>	<b>11</b>
<b>1.3.2. Autres indicateurs .....</b>	<b>11</b>

### **Chapitre 3 : La microflore marine**

<b>1. La microflore marine .....</b>	<b>13</b>
<b>1.1. Les bactéries .....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.1. Mode de vie .....</b>	<b>15</b>
<b>1.2. Les micromycètes .....</b>	<b>20</b>
<b>1.2.1. Mode de vie .....</b>	<b>20</b>
<b>1.3. Les microalgues .....</b>	<b>22</b>
<b>1.3.1. Mode de vie .....</b>	<b>23</b>

## **PARTIE II**

### **ETUDE EXPERIMENTALE**

#### **1 Matériel et méthodes**

<b>1. Présentation de zone d'étude .....</b>	<b>24</b>
<b>2. Prélèvement des échantillons .....</b>	<b>25</b>
<b>2.1. Technique de prélèvement .....</b>	<b>26</b>
<b>2.2. Transport et conservation des échantillons .....</b>	<b>27</b>
<b>3. Analyses physicochimiques des échantillons .....</b>	<b>27</b>
<b>3.1. Analyses essentielles et de routine : in situ .....</b>	<b>27</b>
<b>3.2. Analyses réalisées au laboratoire .....</b>	<b>28</b>
<b>4. Analyses microbiologiques des échantillons .....</b>	<b>31</b>
<b>4.1. Préparation des milieux de culture .....</b>	<b>31</b>
<b>4.2. Dilution décimale .....</b>	<b>31</b>
<b>4.3. Mise en culture des échantillons .....</b>	<b>32</b>
<b>4.4. Dénombrement ou comptage des colonies .....</b>	<b>32</b>
<b>4.5. Identification des souches .....</b>	<b>33</b>

## **2 Résultats et discussion**

<b>1. Résultats des analyses des échantillons de l'eau de mer .....</b>	<b>35</b>
<b>1.1. Les paramètres physicochimiques .....</b>	<b>35</b>
<b>1.2. Les analyses microbiologiques .....</b>	<b>39</b>
<b>1.2.1. Les bactéries .....</b>	<b>39</b>
<b>1.2.2. Les champignons .....</b>	<b>41</b>
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>46</b>

# LISTE DES FIGURES

<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1.</b> Les impacts des activités humaines sur l'écosystème marin	<b>7</b>
<b>Figure 2.</b> Principales sources de la pollution marine	<b>9</b>
<b>Figure 3.</b> Mode d'action de certaines espèces bactériennes dans le cycle biogéochimique marin	<b>15</b>
<b>Figure 4.</b> Image satellitaire de zone industrielle Skikda	<b>25</b>
<b>Figure 5.</b> Position géographique des unités CP2K et DRIK	<b>25</b>
<b>Figure 6.</b> Stérilisateurs UV des flacons en verre et bouchons en PEHD	<b>26</b>
<b>Figure 7.</b> Prélèvement manuelle des échantillons d'eau de mer	<b>26</b>
<b>Figure 8.</b> Canal de rejet du complexe CP2K	<b>27</b>
<b>Figure 9.</b> Canal de rejet du complexe DRIK	<b>27</b>
<b>Figure 10.</b> Appareils portables de mesure : Oxymètre, Turbidimètre, Multi paramètres	<b>28</b>
<b>Figure 11.</b> Appareil de filtration sous vide	<b>29</b>
<b>Figure 12.</b> Appareil de séparation des hydrocarbures	<b>31</b>
<b>Figure 13.</b> Technique de dilution décimale d'échantillon d'eau de mer	<b>31</b>
<b>Figure 14.</b> Technique d'ensemencement par la méthode du râteau	<b>32</b>
<b>Figure15.</b> Compteur des colonies à affichage numérique	<b>33</b>
<b>Figure16.</b> Observation microscopique de souche fongique du P2 avec coloration (1) et sans coloration (2) au bleu de méthylène objectif (×40)	<b>42</b>

## LISTE DES TABLEAUX

Titre	Page
<b>Tableau I.</b> Valeurs moyennes des propriétés physiques de l'eau de mer	<b>2</b>
<b>Tableau II.</b> Concentrations des différents ions majeurs de l'eau de mer	<b>3</b>
<b>Tableau III.</b> Principales molécules de gaz dans l'eau de mer	<b>5</b>
<b>Tableau IV.</b> Les types de la pollution physique	<b>9</b>
<b>Tableau V.</b> Principaux microorganismes responsables à la pollution microbiologique marine	<b>10</b>
<b>Tableau VI.</b> Les normes des indicateurs physiques et chimiques de la pollution marine	<b>11</b>
<b>Tableau VII.</b> Les normes des autres indicateurs de la pollution marine	<b>12</b>
<b>Tableau VIII.</b> Classification des microorganismes en fonction de leurs réponses au sel	<b>13</b>
<b>Tableau IX.</b> Classification de certaines bactéries en fonction de leurs réponses au sel	<b>14</b>
<b>Tableau X.</b> Propriétés des échantillons prélevés des deux sites d'étude	<b>35</b>
<b>Tableau XI.</b> Résultats des paramètres physicochimiques des deux sites de prélèvement	<b>35</b>
<b>Tableau XII.</b> Résultats de dénombrement de culture bactérienne en UFC/ml	<b>40</b>
<b>Tableau XIII.</b> Observation macroscopique de culture bactérienne	<b>41</b>
<b>Tableau XIV.</b> Observation macroscopique de culture fongique âgée de 5 jours	<b>42</b>

# **INTRODUCTION**

## **INTRODUCTION**

Le domaine marin est subdivisé en océans et en mers, qui recouvrent plus de 70% de la surface de la planète terre (Copin-Montegut, 2002).

Les mers et les océans constituent des énormes réservoirs d'eau, elles représentent près de 97.4% du volume d'eau existant actuellement sur notre planète, le reste constitue les eaux continentales (eaux souterraines et superficielles) (Mitra and Zaman, 2016).

L'écosystème marin naturel est une source renouvelable menacée en permanence par les ressources d'eau proviennent des activités anthropiques de différents origines qui sont gravement polluées principalement par les eaux usées et les rejets industriels (hydrocarbures, gaz, métaux lourds...etc.) causant une pollution marine qui affecte les paramètres physicochimiques et la qualité microbiologique caractérisant l'eau de mer, ainsi le fonctionnement de l'écosystème (Bourouache et al., 2019 ; Zaafrane et al., 2019).

Une grande variété des microorganismes colonise le milieu marin qui est adaptée à la vie dans des conditions extrêmes (salinité, pression, température...etc.). Autant que la mer est plus exposée à la pollution notamment par une source industrielle, les microorganismes principalement les bactéries et les champignons présentent naturellement dans l'eau de mer sont capables de continuer à survivre constituant une forme de résistance aux rejets industriels ; ainsi que certains entre eux sont biodégradables de différents rejets : les hydrocarbures, le plastique et les métaux lourds et puissent les utilisent notamment comme source de nutriment (Beiras, 2018 ; Ford, 2000 ; Oren, 2013).

Dans cette intention notre travail est porté sur étude bibliographique qui synthétise les principaux caractéristiques physicochimiques et microbiologiques des eaux de mer supportée et complétée par une partie expérimentale qui a exploité les différents données bibliographiques en vue de mieux étudier la zone d'échantillonnage dans le but de contribuer à trouver une solution microbiologique aux problèmes provoqués par les rejets industriels par la réalisation des analyses physicochimiques et microbiologiques des échantillons d'eau de mer polluée par des rejets de la zone industrielle SONATRACH-Skikda (CP2K et DRIK).

**PARTIE I**  
**SYNTHESE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# **Chapite1**

## **Généralités sur les eaux de mer**

## 1. Les eaux de mer

Les océans sont essentiellement une grosse masse saline d'eau, séparés les uns des autres par les continents. En revanche, les mers sont des étendues d'eau salée séparés des océans par les îles chaînes ou par des crêtes sous-marines (Mitra and Zaman, 2016).

Contrairement aux océans, les mers sont plus enclines aux changements par les conditions climatiques aussi par les échanges entre l'eau et les particules atmosphériques, introduisent en effet des modifications de la masse de la mer (Kumar and Häder, 2012 ; Mitra et al, 2016).

### 1.1. Propriétés des eaux de mer

Les eaux saumâtres se forment d'un mélange des eaux salées océaniques et des eaux douces continentales. Ces milieux sont divers, souvent variables et très instables en raison de leurs origines même (Schachter, 1969).

Ils peuvent être subdivisés en plusieurs grandes catégories : environnement athalassohalin (hypersalin), et environnement thalassohalin (salin) en rapport direct avec la mer (de Ridder, 1968).

L'eau de mer est une solution physique électrolytique originale dont la composition relative est constante, de profondeur moyenne de 3,8 km, soit un volume de 1370 106 km<sup>3</sup> (Copin-Montegut, 2002 ; Mitra and Zaman, 2016).

Elle constitue un système parfaitement décrit par trois propriétés physiques : salinité, température, pression (tableau I). Ces trois variables dépendant des régions géographiques aussi de leurs profondeurs (Copin-Montegut, 2002). Le critère de base est celui du degré de salinité globale (Schachter, 1969).

**Tableau I.** Valeurs moyennes des propriétés physiques de l'eau de mer  
(Copin-Montegut, 2002).

Propriétés physiques	Symboles	Valeurs moyennes	Unité
Salinité	S	35,000	‰
Température	t	25	°C
Pression	P	101 325	Pa

L'eau de mer est un solvant idéal, mélangée de plusieurs sels et gaz dont la composition ionique des ions principaux présente une variation spatiale uniforme, cela signifie que la

composition est presque la même d'un endroit à l'autre ainsi qu'à la profondeur (Mitra and Zaman, 2016).

- Les sels contenant dans le milieu marin sont les plus solubles de la croûte terrestre dont 78% est le chlorure de sodium (Na Cl) (Gerday C and Glansdorff N, 2007 ; Rodier, 2009).
- Les ions majeurs présents dans l'eau de mer sont appelés ions conservateurs, car ils ne changent pas leurs rapports les uns aux autres même au changement de salinité, aussi ils ne sont généralement ni enlevés ni ajoutés par les organismes vivants.

Certains ions et molécules organiques présents en quantités beaucoup plus faibles changent leurs concentrations dans l'eau de mer avec des processus biologiques et chimiques ; ceux-ci sont appelés ions non conservateurs (Mitra and Zaman, 2016) (tableau II).

**Tableau II.** Concentrations des différents ions majeurs de l'eau de mer (Copin-Montegut, 2002 ; Mitra and Zaman, 2016).

Constituents	Symbols	Concentrations	
		g/kg	mol/kg
Ion chlorure	Cl <sup>-</sup>	19,354	0,54591
Ion sodium	Na <sup>+</sup>	10,77	0,4685
Ion sulfate	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2,712	0,02823
Ion magnésium	Mg <sup>2+</sup>	1,290	0,05308
Ion calcium	Ca <sup>2+</sup>	0,4121	0,01028
Ion potassium	K <sup>+</sup>	0,399	0,01021
Hydrogénocarbonate +carbonate	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	0,118 à 0,146	0,00194 à 0,00240
Ion bromure	Br <sup>-</sup>	0,0673	0,000842
Ion strontium	Sr <sup>2+</sup>	0,0079	0,000090
Bore total	B <sup>3-</sup>	0,0045	0,00042
Ion fluorure	F <sup>-</sup>	0,0013	0,00007
Total		<b>~35.00</b>	

\* Les concentrations se rapportent en g dans un kg d'eau de mer (eau + sels dissous).

\* La concentration totale des ions atteint **35,15 g.kg<sup>-1</sup>** alors que la salinité moyenne est **35,000‰**. Cette différence est due aux définitions opérationnelles de la salinité

- Les gaz les plus abondants qui dissolvent dans l'eau de mer sont l'azote (N<sub>2</sub>), l'oxygène (O<sub>2</sub>) et le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>). Ils sont différents en pourcentage et leurs concentrations sont modifiées à diverses profondeurs sous l'effet des activités biologiques (tableau III).
  - O<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub> jouent un rôle important parce qu'ils sont nécessaires à la vie marine.
  - N<sub>2</sub> n'est pas utilisé directement par les microorganismes marins à l'exception de certaines bactéries.
  - Certains gaz comme l'argon, l'hélium et le néon sont présents en petite quantité (Mitra and Zaman, 2016).

**Tableau III.** Principales molécules de gaz dans l'eau de mer (Mitra and Zaman, 2016).

Molécules	Pourcentages	Concentrations	
		ml/l	μmol/kg
N <sub>2</sub>	47.5	10	0.446
O <sub>2</sub>	36.0	5	0.219
CO <sub>2</sub>	15.1	40	2.142

## 1.2. Paramètres des eaux de mer

L'étude des écosystèmes marins se fonde sur des descripteurs complémentaires, caractérisés par des analyses physicochimiques et chimiques satisfaisants pour désigner une approche physique du milieu marin (Rodier, 2009).

- **Salinité :**

Ce paramètre désigne la masse totale des composés solides dissous (TDS) dans un kilogramme d'eau de mer. Elle s'exprime en ‰ ou en g/kg (1 kg d'eau de mer de salinité 35,000 ‰ devrait contenir 35,000 g de sel pour 965,000 g d'eau pure) (Copin-Montegut, 2002 ; Rodier, 2009).

La masse totale des sels dissous dans 1 kg d'eau peut varier d'une eau de mer à une autre, mais l'augmentation de leurs concentrations sert à la diminution de la diversité biologique (Copin-Montegut, 2002 ; Gerday C and Glansdorff N, 2007).

- **Température :**

La température est avec la salinité un des descripteurs de base pour la connaissance du milieu marin parce qu'elle influe sur l'activité biologique et même sur la répartition des espèces.

La température est mesurée en association avec la salinité par les physiciens avec une grande précision pour calculer une autre propriété de l'eau qui est la masse volumique  $\rho$ . La variation de température se change d'une profondeur à une autre dans la même région (Aminot and Kérouel, 2004 ; Copin-Montegut, 2002).

- **Potentiel hydrogène (pH) :**

Le pH de l'eau de mer résulte de sa composition ionique, principalement il est relatif à la concentration en ion d'hydrogène ( $H^+$ ), donc c'est la mesure de l'acidité de ce milieu.

Le pH est influencé par les facteurs externes environnementaux, en retour il influence de nombreux processus chimiques et biologiques (Aminot and Kérouel, 2004)

- **Conductivité électrique :**

C'est la propriété qui permet le passage d'un courant électrique dans l'eau. Elle est due à la présence des ions qui sont mobiles dans un champ électrique (Rejsek, 2002).

- **Oxygène dissous :**

L'expression (OD) concerne exclusivement l'oxygène moléculaire  $O_2$  qui est un gaz dissous dans l'eau de mer en grande quantité 36.0%. Il intervient dans la plus part de processus biologique. La carence en concentration d' $O_2$  stimule l'effet de substance toxique (ex : ammoniac) (Aminot et al, 2004 ; Mitra et al, 2016 ; Rejsek, 2002).

- **Turbidité :**

C'est l'opacité d'un milieu trouble, autrement dit c'est la réduction de la transparence de l'eau de mer qui due à la présence des particules insolubles. Ces particules sont représentées en matières colloïdales (d'origine organique ou minérale) et/ou en matières en suspensions : l'argile, les matières organiques et inorganiques en particules fines, les planctons et d'autres microorganismes (N'Diaye et al., 2013).

- **Matières en suspension (MES) :**

Représentent l'ensemble des particules solides minérales et organiques contenues dans l'eau de mer. Elles dépendent de la nature du terrain traversé, de la saison, de la nature des rejets...etc. Les particules les plus fines (argile et colloïdes) peuvent former des agrégats grâce à la floculation (Beiras, 2018 ; Makhoukh et al., 2011).

- **Demande biochimique en oxygène (DBO) :**

C'est la quantité d'oxygène nécessaire à la destruction des matières organiques qui sont décomposées par des processus biochimiques (Fathallah et al., 2014).

- **Demande chimique en oxygène (DCO) :**

C'est la quantité d'oxygène nécessaire à la dégradation chimique des composés organiques ou minérales présents dans l'eau de mer utilisant un oxydant puissant. La DCO permet de quantifier la concentration de ces composés quel que soit dissous ou en suspensions (Fathallah et al., 2014).

## **Chapitre 2**

# **Pollution des eaux de mer**

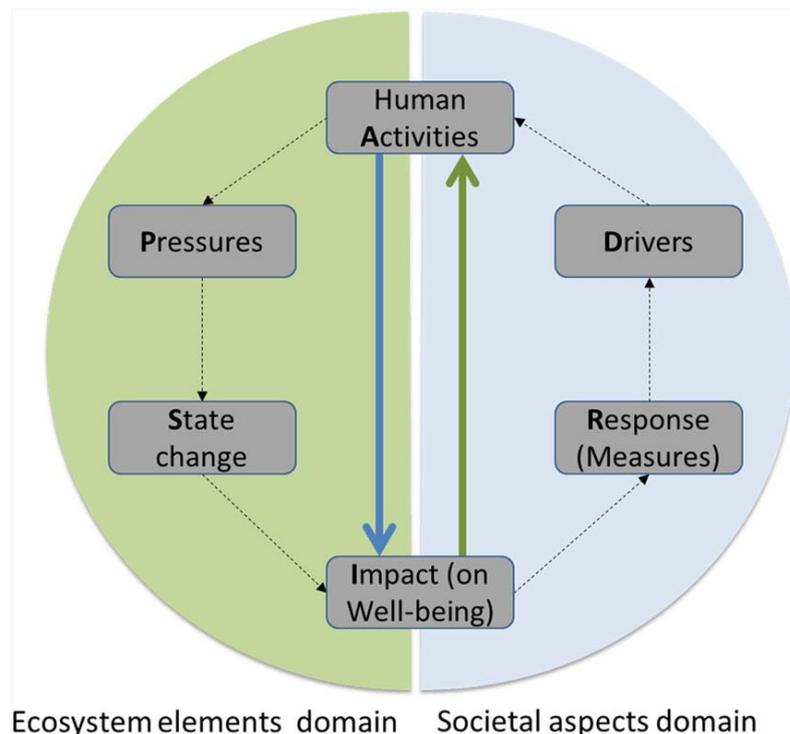
**1. Pollution des eaux de mer**

Le terme « pollution » désigne toute modification indésirable du milieu naturel générée principalement par les activités humaines, qui sert à la création d’un environnement extérieur complexe par les interactions entre les polluants naturels et artificiels. Grâce aux principaux voies de circulation de la matière dans l’environnement les polluants finissent souvent dans la mer (Beiras, 2018 ; D’Amato et al., 2015).

Les masses maritimes sont considérées comme des espaces de dilution de pollution terrestre, dont 80% ~ 6,4 10<sup>9</sup> kg de déchets de la pollution marine est d’origine terrestre (Goeury, 2014 ; Weis, 2014).

La commission océanographique intergouvernementale définit la pollution marine comme l’introduction directe ou indirecte des substances, des déchets, ou d’énergie qui sont issues des activités anthropiques dans le milieu marin (Gerlach, 1981).

Toutes ces polluants sont susceptibles d’entraîner des effets nuisibles pour les ressources vivantes et les écosystèmes marins, d’où l’intervention de l’organisation maritime internationale (OMI) qui agit dans un premier temps contre la pollution, principalement par l’interdiction du déversement de certaines matières dangereuses en mer (Goeury, 2014 ; Karim, 2015) (figure1).



**Figure 1.** Les impacts des activités humaines sur l’écosystème marin (Bryhn et al., 2020).

## **1.1. Sources de pollution**

Les polluants sont transportés à la mer par trois voies principales : par atmosphère, par apport fluvial ou par déversement directe dans la mer, causant la pollution marine qui est le fait des sources urbaines, agricoles, marines ou industrielles (Beiras, 2018 ; Goeury, 2014).

### **1.1.1. Pollution urbaine**

Source constitue des eaux usées et des eaux de ruissellements provenant des zones urbaines et rurales polluées contenant : de nombreux détruits solides de petites tailles, une teneur importante de matières minérales en suspensions (sable, graviers, poussières), une forte concentration de substances d'utilisations quotidiennes (lessivage de parking, le phosphate contenant dans les détergents des eaux usées urbaines).

Les effluents urbains sont actuellement traités dans des stations d'épurations qui se déversent dans les eaux réceptrices par l'intermédiaire d'une canalisation (Beiras, 2018 ; Genin et al., 2003 ; Weis, 2014).

### **1.1.2. Pollution d'origine agricole**

Pollution émanant de l'application des engrais et des pesticides agricoles en terre, qui contient des grandes quantités d'azote, du phosphore et du nitrate.

Ces composés sont lessivés par les pluies et s'infiltrent dans les nappes phréatiques (Bliefert and Perraud, 2007 ; Tolba, 1992).

### **1.1.3. Pollution d'origine marine**

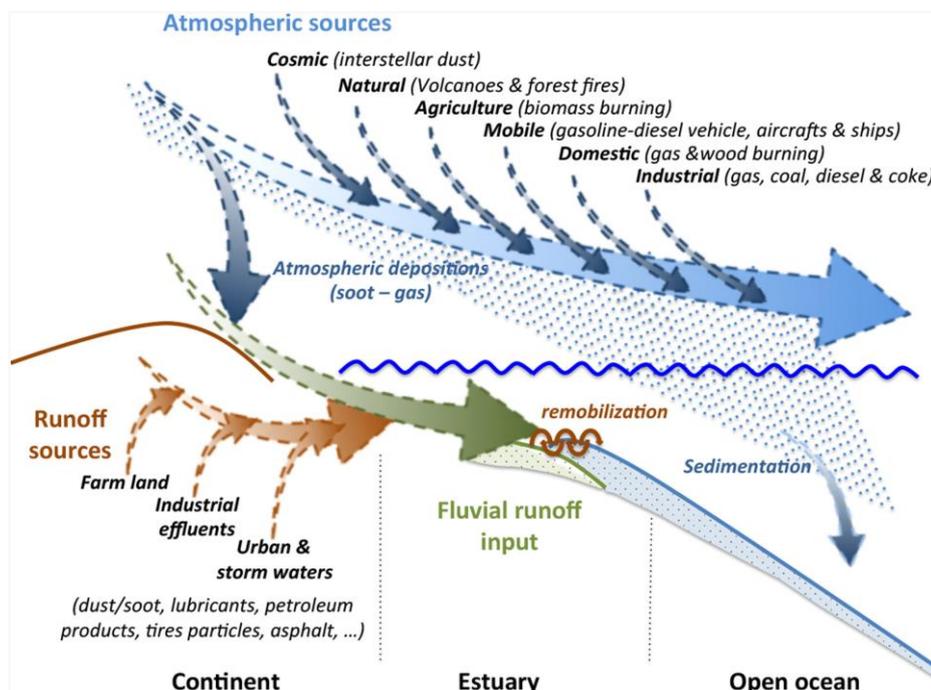
Ce type provient en partie des navires soit du fait d'accidents (naufrages, accidents de navigation des navires, les marées noires...) soit du fait d'actes volontaires (dégazages...) (Conil and Le Guern, 2013).

### **1.1.4. Pollution industrielle**

De nombreux polluants proviennent des zones industrielles constituent une importante source de pollution. Les rejets industriels sont caractérisés par leurs grandes diversités car ils proviennent de plusieurs sources : les activités des usines (chimie, traitement de surface, agroalimentaire), les activités de plate-forme pétrolière, les industries pharmaceutiques...etc.

Plusieurs déchets industriels sont volatils et persistants ; certains sont peu biodégradables tel que : les métaux lourds, d'autres sont biodégradables tel que : certains types de plastique qui

se fragmentent en minuscules particules qui se mélangent avec les sédiments avant d’être remis en suspension (Genin et al., 2003 ; Goeury, 2014 ; Weis, 2014) (figure2).



**Figure 2.** Principales sources de la pollution marine (Duran and Cravo-Laureau, 2016).

**1.2. Types de pollution**

Une connaissance des propriétés physicochimiques et biologiques des polluants est également nécessaire pour définir et évaluer le type de pollution (Kumar and Häder, 2012).

La pollution est immédiatement associée aux produits chimiques, mais selon leurs natures les polluants peuvent causer :

**1.2.1. Pollution physique**

Deux types de pollution physique distingués selon leurs sources et leurs natures (tableau IV).

**Tableau IV.** Les types de la pollution physique (Chartier, 1974 ; Moilleron, 2017).

	Nature	Source
<b>thermique</b>	rejets d'eau chaude (non souillés, et chargés de calories)	centrales thermiques
<b>radioactive</b>	radio-isotopes	installations nucléaires

### 1.2.2. Pollution chimique

Ce type est généré par les substances chimiques proviennent des activités industrielles tel que : les composés chlorés, les hydrocarbures polyaromatiques, les pesticides et les produits pharmaceutiques. Ces polluants peuvent être persistants, bioaccumulables et toxiques (PBT), leurs fuites dans le milieu marin peuvent causer des dommages permanents à long ou à court terme (Beiras, 2018 ; Brown et al, 2017 ; Haque et al., 2019).

### 1.2.3. Pollution microbiologique

Ce type est généré par les microorganismes pathogènes (virus, bactéries, parasites) (tableau V) proviennent principalement : de versement d'effluents de stations d'épuration, des fuites des eaux usées ou de ruissellement des terres agricoles. Ces microorganismes peuvent produire : des virions, des spores, des kystes et des œufs qui représentent des stades infectieux résistants dans le milieu marin, donc ils sont responsables aux maladies des espèces marines ou des êtres humains lors de loisir et baignade (Jenkins et al., 1998 ; Sassoubre et al., 2015).

**Tableau V.** Principaux microorganismes responsables de la pollution microbiologique marine (Beiras, 2018).

Microorganismes	Familles	Genres et espèces
<b>Bactéries</b>	Enterobacteriaceae	<i>Salmonella, Shigella, Yersinia enterocolitica, Yersinia pestis, Escherichia coli</i> (certaines souches)
	Campylobacteraceae	<i>Campylobacter</i>
	Vibrionaceae	<i>Vibrio cholera</i>
<b>Virus</b>	Picornaviridae	<i>Enterovirus, Hepatovirus</i>
	Caliciviridae	<i>Norovirus</i>
	Hepeviridae	<i>Orthohepevirus</i>

Dans des conditions normales ou en cas de pollution microbiologique légère, les microorganismes naturellement présentent dans la mer seront responsables du processus biologique d'autoépuration sous l'influence des facteurs physiques et chimiques ; mais ce processus naturel est déséquilibré en cas de contamination massive (Drapeau et al., 1977).

### 1.3. Indicateurs de pollution

« Indicateurs » définissent en tant qu'entités qui aident à surveiller l'état de la pollution et/ou d'évaluer leurs impacts biologiques. Ils peuvent être des composants ou des processus de l'écosystème qui sont capables d'être mesurés (Brown and Takada, 2017).

#### 1.3.1. Indicateurs physiques et chimiques

Salinité, Température, pH, Conductivité électrique, Oxygène dissous, Turbidité, MES, DCO, DBO (définissent au-dessus) (tableau VI).

**Tableau VI.** Les normes des indicateurs physiques et chimiques de la pollution marine (“Journal officiel de la république Algérienne N° 26,” 2006).

Indicateurs		Unité	Valeurs limites	Tolérance aux valeurs limites anciennes installations
Physiques	Température	°C	30	35
	pH	-	5,5-8,5	5,5-8,5
	MES	mg/l	25	30
Chimiques	DBO <sub>5</sub>	mg/l	25	30
	DCO	mg/l	100	120
	Azote total	-	20	25

#### 1.3.2. Autres indicateurs

- **Hydrocarbures :**

Ces composés constituent la fraction la plus importante du pétrole brut, de structure hydrophobe stable à faible solubilité et volatilité, ils sont considérés comme des molécules persistantes qui circulent pendant des millions d'années. Leurs métabolites sont considérés comme hautement mutagènes toxiques et cancérogènes. Les flux des hydrocarbures dans les environnements marins sont contrôlés par la dégradation microbienne (Duran and Cravo-Laureau, 2016).

Les hydrocarbures sont des molécules composés uniquement d'atomes de carbone et d'hydrogène, ils sont distingués en trois catégories :

- Les hydrocarbures aliphatiques : des chaînes de structure linéaire, relativement biodégradables et peu toxiques. Ils peuvent former jusqu'à 40 % de pétrole brut.

- Les hydrocarbures alicycliques : des composés organiques qui peuvent être de structure linéaire ou cyclique, ils peuvent également être saturés.
- Les hydrocarbures aromatiques : des composés organiques contenant plusieurs noyaux aromatiques accolés qui sont appelés également « hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) », forment la catégorie la plus importante. Ils sont généralement insaturés, non volatiles et constituent entre 2 et 4 % de pétrole brut (Duran and Cravo-Laureau, 2016 ; Maamar, 2015).

- **Micropolluants :**

Représentent principalement trois catégories qui sont liées aux activités industrielles mais parfois aussi agricoles :

- Huiles et graisses : les nappes d’huiles présentent sur la surface de l’eau de mer permettent l’accumulation des composés organiques non polaires tels que les composés organohalogénés et d’autres composés organiques hydrophobes (Beiras, 2018).
- Métaux lourds : sont des éléments en traces, parmi les polluants environnementaux les préoccupants en raison de leurs effets toxiques et de leurs bioaccumulations dans les écosystèmes aquatiques.

La concentration totale des métaux dans les sédiments joue un rôle d’indicateur de pollution des milieux marins.

Actuellement les objectifs généraux consistent à évaluer l’étendue des métaux lourds (Fe, Mn, Cu, Pb, Co, Zn et Cr).

- Composés phénoliques (Naik et al, 2017 ; Armon et al, 2015).

**Tableau VII.** Les normes des autres indicateurs de la pollution marine (“Journal officiel de la république Algérienne N° 26,” 2006).

Indicateurs		Unité	Valeurs limites	Tolérance aux valeurs limites anciennes installations	
Hydrocarbures		mg/l	5	10	
Micropolluants	Huiles et graisses	mg/l	15	20	
	Phénol	mg/l	0.25	0.5	
	Métaux lourds	Pb	mg/l	0.5	1
		Cr	-	0.05	0.3

# **Chapitre 3**

## **La microflore marine**

## 1. La microflore marine

L'environnement marin offre de nombreux et divers habitats pour les microorganismes formant une microflore marine. Les microorganismes aquatiques sont omniprésents, le plus souvent unicellulaires de tailles de 0,2 à 2  $\mu\text{m}$ , ils représentent jusqu'à 50% de la biomasse totale du milieu (Grégori et al., 2010).

L'étude des microorganismes marins sert à identifier peu à peu leurs diversités, leurs propriétés physiologiques aussi leurs modes de vie. Les microbiologistes ont démontré qu'ils peuvent exister sous forme benthique (attachés à un substrat) ou pélagique (planctonique : vie libre dans l'eau), vivant à l'extérieur ou à l'intérieur d'autres organismes présentant différents types d'interactions entre eux et avec leurs habitats abiotiques lui-même.

Dans la plupart des cas ces communautés sont divers où 1ml d'eau de mer contient habituellement  $1 \times 10^7$  virus,  $1 \times 10^6$  bactéries,  $1 \times 10^4$  cyanobactéries,  $1 \times 10^3$  champignons et  $1 \times 10^3$  microalgues ; présentant des niveaux extraordinaires de plasticité métabolique reflétant leurs capacités de survivre malgré des conditions environnementaux variables (Jenkins et al., 1998 ; Stal and Cretoiu, 2016).

Les microorganismes du milieu marin sont appelés aussi extrêmophiles possédant des caractéristiques complexes de l'adaptation aux multiples facteurs de stress.

La plupart des espèces marines ont besoin de sel principalement les cations  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Mg}^{2+}$  pour faciliter la croissance et le métabolisme aussi le maintien de l'intégrité cellulaire. Ils peuvent être trouvés à tous les concentrations de sel (thalassohalins ou athalassohalins milieux), selon leurs teneurs variables les microorganismes marins ont été classifiés (tableau VII) (Oren, 2013 ; Stal and Cretoiu, 2016).

**Tableau VIII.** Classification des microorganismes en fonction de leurs réponses au sel (Oren, 2013).

Catégories	Plage de croissance
Non Halophile	< 0,2 M de sel
Halophile léger	0,2 à 0,5 M de sel
Halophile modéré	0,5 à 2,5 M de sel
Halophile extrême	1,5 à 4,0 M de sel
Halophile extrême	2,5 à 5,2 M de sel
Non-halophile tolérant aux halophiles	> 2,5 M de sel

### 1.1. Les bactéries

Les bactéries marines sont très diversifiées représentent plus de 20 000 espèces, mais les études récentes ont montré que la diversité bactérienne marine mondiale doit être très élevée de ce nombre, mais malheureusement ces bactéries extrêmophiles n'ont pas encore livré tous leurs secrets (Stal and Cretoiu, 2016).

La dominance des espèces est un aspect important pour mieux comprendre la biogéographie microbienne marine et de la détermination des facteurs qui causent cette dominance.

Parmi les genres bactériens les plus abondants du milieu marin : *Pseudomonas*, *Marinoglutinosus*, *Vibrio*, *Agarobacterium*, *Xanthomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Micrococcus*, *Alteromonas*, *Staphylococcus*, *Photobacterium* et plusieurs genres de Cyanobactéries ...etc.

Les genres *Pseudomonas*, *Flavobacterium* et *Achromobacter* sont les plus riches en espèces, mais cela ne signifie pas qu'ils dominent effectivement en nombre de germes et en importance métabolique, en revanche les espèces les plus dominantes sont membres de *Pseudomonas*, *Alteromonas* et *Vibrio* (Berland et al., 1969 ; Marteinsson et al., 2016).

Les groupes des bactéries ont été classés selon leurs traits morphologiques et leurs capacités métaboliques aussi de leurs adaptations à des concentrations de sel (tableau IX).

Actuellement, les études récentes utilisent la génétique moléculaire pour identifier les communautés microbiennes et donnent une meilleure idée concernant le terme « bactéries marines » (Marteinsson et al., 2016 ; Stal and Cretoiu, 2016).

**Tableau IX.** Classification de certaines bactéries en fonction de leurs réponses au sel (Oren, 2013).

Catégories	Exemples des bactéries
Halophile léger	La plupart des bactéries marines
Halophile modéré	<i>Salinivibrio costicola</i> <i>Halomonas elongata</i>
Halophile extrême	<i>Halobacterium salinarum</i> <i>Salinibacter ruber</i>
Non-halophile tolérant aux halophiles	<i>Staphylococcus aureus</i>

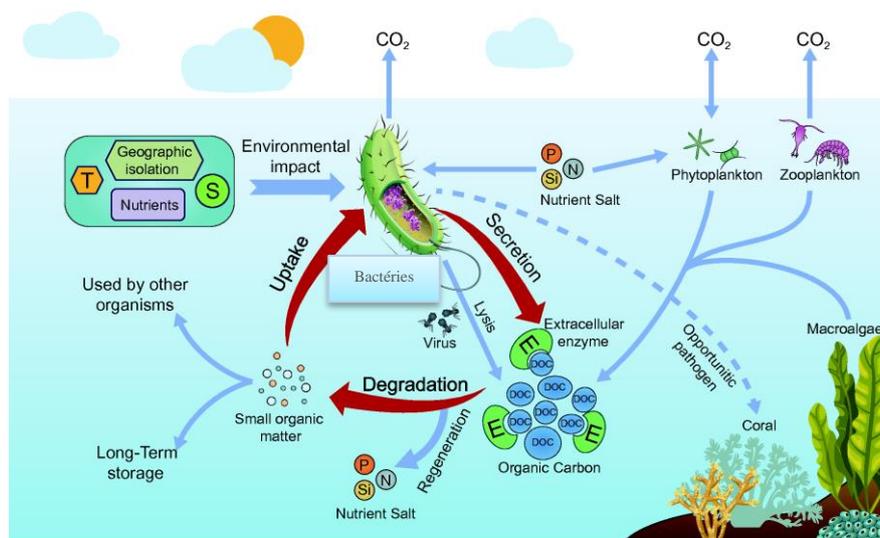
### 1.1.1. Mode de vie

Les bactéries marines dans leurs environnements naturels ne sont pas dans un sens strict souligné ; elles se changent le long de la colonne d'eau, de la surface de la mer aux eaux profondes.

Ce changement des communautés est le fait de plusieurs mouvements physiques : des courants, des tourbillons et des fronts de mer qui contribuent à la dissémination microbienne, aussi à la modification de la structure biogéographique de la communauté parce qu'ils aident les bactéries qui sont à l'état planctonique de s'attacher pour former des biofilms restant dans les couches supérieures ou diffusant jusqu'aux profondes.

Ces biofilms peuvent également être fixés et distribués par des supports abiotiques : des coques de navires ou des déchets plastiques, aussi par des supports biotiques : par l'association avec les plantes ou les animaux (Marteinsson et al., 2016).

Les bactéries sont les principaux moteurs des cycles biogéochimiques de presque tous les éléments nutritifs et donc de fonctionnement de l'écosystème marin ; en raison de leurs grandes abondances, leurs activités spécifiques élevées, leurs capacités métaboliques. Ainsi les flux biochimiques qui soutiennent la vie comme le cycle de carbone, la fixation de l'azote, l'oxydation de l'ammoniac et du méthane, le phosphore, le soufre et le fer sont très liés à l'identification et la caractérisation des bactéries et de leurs capacités physiologiques (figure 3) (Marteinsson et al., 2016 ; Stal and Cretoiu, 2016).



**Figure 3.** Mode d'action de certaines espèces bactériennes dans le cycle biogéochimique marin (Zhang et al., 2018).

Les communautés sont influencées par des variations spatio-temporelles. Elles peuvent être altérées par des paramètres physicochimiques tel que : lumière UV, température, pH, salinité et pression hydrostatique ; aussi par une grande variété de conditions : l'approvisionnement des nutriments, la disponibilité énergétique et la disponibilité en oxygène (Marteinsson et al., 2016 ; Stal and Cretoiu, 2016).

Certaines recherches ont montré moins de diversité microbienne en haute mer, alors que d'autres ont montré une plus grande diversité ; ces différences semblaient être liées à l'oxygène et aux nutriments. Alors que des mesures d'activités microbiennes effectuées sur l'ensemble d'une colonne d'eau montrent généralement une baisse des activités avec la profondeur. Cette décroissance est causée par une combinaison de plusieurs facteurs principalement : la chute de température, l'épuisement progressif des nutriments et des ressources énergétiques, aussi l'élévation de la pression hydrostatique. Donc les microbiologistes ont conclu que les peuplements bactériens des fonds marins sont peu abondants (de l'ordre de  $10^4$ /ml) et peu actifs parce que les vitesses métaboliques sont basses (Bianchi et al., 1999 ; Marteinsson et al., 2016).

Presque toutes les bactéries marines qui sont étudiées en laboratoire sont capables de profiter de certaines formes de résistance aux stress environnementaux.

➤ Les biofilms microbiens sont la forme la plus abondante, ils fournissent également une protection pour les bactéries libres pour mieux résister aux certaines conditions stressantes. Comme exemple : un groupe de biologiste Français ont démontré l'existence des bactéries dans les sédiments marins prélevées à 5000m qui sont capables de dégrader activement la matière organique dans des conditions de pression hydrostatique très élevé, aussi que de faible température ; mais ils ont conclu qu'il n'existe probablement pas des bactéries libres réellement adaptées aux conditions abysses contrairement aux bactéries sous forme de biofilms (Ford, 2000; Prieur, 1995).

➤ L'activation de l'état viable non cultivable des bactéries (VBNC) est la principale forme de résistance présentée par la plupart des bactéries marines, qui est stimulé par des conditions sévères notamment le manque des nutriments qui peut induire une famine. Deux types de bactéries sont distingués en fonction de leurs très différentes adaptations à la famine :

- ❖ Bactéries copiotrophes : sont adaptées à un taux de croissance rapide lors de la rencontre des niveaux de substrats élevés même si elles sont dans un état VBNC,

grâce à leurs capacités de réagir rapidement à une augmentation soudaine de substrats, ont des volumes de cellules élevés ( $>1 \mu\text{m}^3$ ) dans des milieux riches ; ces bactéries impliquent une forte motilité et une absorption rapide du substrat en cas d'un signal de prédiction de famine.

Elles sont censées d'être dominantes dans les endroits riches en matière organique, mais aussi d'être menacées par un fort taux de mortalité dans les endroits pauvres en celle-ci ; parce qu'elles ne supportent pas d'entrer à longue durée dans l'état VBNC.

- ❖ Bactéries oligotrophes : sont souvent très abondantes, représentent mieux le cas de VBNC parce que les cellules affamées ont subi des changements morphologiques avec des petits volumes ( $0,1\mu\text{m}^3$ ), un faible taux de croissance indépendamment des concentrations élevées du substrat donc même si le milieu est riche en nutriments elles restent en dormance jusqu'aux toutes les conditions deviennent favorables. Ces bactéries possèdent peu de système d'absorption à large spectre, un manque de motilité, mais une grande tolérance aux stress. Elles sont censées d'être dominantes dans la communauté microbienne lorsque le milieu est pauvre en matières organiques (Ford, 2000 ; Lleò et al., 2005 ; Stal et al, 2016).

- **Résistance et biodégradation bactérienne vis-à-vis les polluants industriels**

Si le peuplement microbien qui est altéré par une pollution marine suit un mode de vie normale, alors nous pourrions identifier une énorme communauté sensible et donc sujette à disparaître rapidement après cette pollution ; mais les réactions microbiennes à la pollution principalement anthropique en milieu marin reflètent la vaste gamme de capacité d'adaptation au niveau microbien. Il n'est donc pas surprenant qu'il existe des polluants environnementaux qui peuvent être trouvés dans les films de surface et/ou dans les sédiments marins en particulier à proximité des grands centres industriels les plus souvent : hydrocarbures pétroliers, pesticides, métaux lourds et plastique (Beiras, 2018 ; Ford, 2000).

- **Les Plastiques :**

L'utilisation de plastique et le plus souvent le polyéthylène à haute densité (PEHD) pose des graves menaces pour l'écosystème marin ; car ils sont à peine dégradables, persistants et volumineux, malheureusement ces utilisations n'ont pas été accompagnées par un développement des procédures pour l'élimination sécuritaire ou la dégradation de ces matières (Balasubramanian et al., 2010).

La pénétration du plastique dans les systèmes aquatiques nécessite la formation rapide d'un biofilm microbien sur la surface du polymère ce qui entraîne une résistance microbienne. La composition de la communauté bactérienne diffère selon le type de plastique cela suggère que le type de polymère a une influence plus forte sur la colonisation bactérienne et par conséquent sur la composition des biofilms, ces derniers peuvent inclure : des espèces résistantes envahissantes qui peuvent être transportées par les débris de plastique à des grandes distances ou des espèces capables de dégrader efficacement ces matières inertes (Pinto et al., 2019 ; Yoshida et al., 2016).

La gravité de PEHD a poussé les microbiologistes de prouver la capacité de dégradation des bactéries isolées des déchets de plastiques marines, plusieurs expériences ont été réalisées in vitro pour identifier ces bactéries, leurs capacités et leurs processus de dégradation. En 2010 Balasubramanian et al ont signalé deux dégradations potentielles du PEHD par certaines espèces appartenant des genres d'*Arthrobacter* et *Pseudomonas*. La biodégradation maximale a été observée pendant 30 jours d'incubation avec les deux souches bactériennes, mais la dégradation par *Pseudomonas sp* a été plus rapide que par *Arthrobacter sp*. En 2016 Yoshida et al ont signalé *Ideonella sakaiensis* comme une bactérie nouvellement découverte qui est capable aussi de dégrader ces matières inertes.

Les résultats ont été basé sur : la viabilité des bactéries, la formation de biofilm, la perte de poids de plastique et l'activité métabolique élevée (couleur verte des cellules vivantes sous microscope épifluorescent) (Balasubramanian et al., 2010 ; Sangeetha Devi et al., 2019).

Les études récentes ont démontré que les rayonnements solaires en particulier les UV jouent un rôle très important pour la dégradation de PEHD par les communautés de plastique « plastisphères » ; car ces rayonnements génèrent des radicaux libres lors de la dégradation qui sert à modifier les propriétés chimiques des polymères ce qui à son tour facilitent le processus aux plastisphères. D'un autre côté en présence de rayonnements, les plastiques lessivent le carbone organique dissous dans l'eau de mer environnante stimulant l'hétérotrophie microbienne ce qui pousse les bactéries de les utiliser comme une source unique de carbone. Mais aucun document ne décrit clairement les éléments de preuves des processus de biodégradation du PEHD aussi les études n'ont pas étudié l'effet de ces matières à long terme (Pinto et al., 2019).

➤ **Les hydrocarbures :**

Les hydrocarbures peuvent causer des impacts sur les communautés bactériennes soit par un effet toxique direct ou indirect par changement des paramètres environnementaux. Ces produits rejetés accidentellement dans l'eau de mer sont résistés et/ou dégradés par certaines bactéries. Plusieurs bactéries dont *Acinetobacter calcoaceticus*, *Alcaligenes denitrificans*, *Alcaligenes odorans*, *Arthrobacter polychromogenes*, *Bacillus thuringiensis*, *Burkholderia cepacia*, *Mycobacterium vanbaalenii*, *Mycobacterium flavescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Stenotrophomonas maltophilia* ...etc qui se trouvent naturellement dans les milieux marins ont été signalés à dégrader efficacement les hydrocarbures pétroliers. La communauté bactérienne à Gram négatif a été déclarée plus efficace pour cette dégradation (Cagnon et al., 2010 ; Khatoon et al, 2019).

Les bactéries hydrocarbonoclastes (dégradeurs de HAP) métabolisent les hydrocarbures aliphatiques ou aromatiques sécrétant différentes enzymes les plus souvent détectées sont : les mono-dioxygénases, les laccases et les peroxydases qui impliquent la minéralisation des cycles de HAP produisant principalement le CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O pour les utilisés comme des sources de carbone limitées avec une préférence par les bactéries spécialisées.

Les gènes codants pour les enzymes qui permettent aux bactéries de résister et/ou dégrader les HAP sont portés sur un plasmide ; il est rapporté que l'abondance de plasmide est plus dans les zones polluées que dans les zones non polluées, mais les données expérimentales sont limitées (Khatoon and Malik, 2019 ; Teramoto et al., 2013).

➤ **Les métaux lourds :**

Les milieux aquatiques sont des récepteurs d'effluents et des déchets industriels et urbains qui sont remplis en métaux lourds toxiques pour les bactéries.

Les expériences ont examiné une réponse planctonique et sédimentaire des communautés bactériennes à des concentrations croissantes de métaux lourds, certains d'entre eux tel que : le cadmium et le mercure sont connus comme des puissants inhibiteurs de plusieurs activités enzymatiques, mais certaines bactéries ont une grande capacité d'adaptation à ces conditions hostiles par l'apparition des souches résistantes grâce aux gènes portés par des plasmides de hauts poids moléculaires.

Cette fonction est apparue spécifiquement chez certaines espèces d'*Aeromonas* qui peuvent supporter des concentrations plus élevées de cadmium, et qui peuvent aussi réduire le

mercure  $Hg^{++}$  toxique en  $Hg(o)$  sous forme volatile non toxique grâce à la sécrétion d'un mercure réductase à des concentrations subtoxiques de ce métal lourd (Benaissa and Mohamed, 1992).

### **1.2. Les micromycètes**

Des microorganismes eucaryotes, représentent deux types de structures : la forme levure unicellulaire et la forme mycélienne pluricellulaire constitue d'hyphe qui désigne les moisissures « champignons inférieurs microscopiques ».

Les environnements marins renferment de nombreux champignons mais ces milieux sont peu étudiés par les mycologues comparativement aux milieux continentales.

Parmi les genres des micromycètes marins les plus abondants : *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Trichoderma* *Geotrichum* *Verticillium* *Mucorales* qui sont des moisissures, et *Candida*, *Debaryomyces*, *Kodamaea*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Exophiala*, *Hortaea*, *Phaeothea*, *Saccharomyces* qui sont des levures (Khusnullina et al., 2018 ; Raghukumar, 2012 ; Stal et al, 2016).

L'identification et la caractérisation des champignons sont basées sur une combinaison d'observations morphologiques (aspect macroscopique et structure microscopique) et d'analyses des séquences moléculaires de gènes qui ont révolutionné la compréhension de la phylogénie des champignons (Jones et al., 2015).

#### **1.2.1. Mode de vie**

Les champignons se trouvent dans différents habitats marins allant des eaux profondes en haute mer, sa connaissance dans les régions profondes est très limitée attendu que dans les surfaces est bien précisée mais n'a pas encore montrée des différences remarquables en terme de nouveautés taxonomiques et de caractéristiques morphologiques (Raghukumar, 2012).

Les micromycètes sont des microorganismes hétérotrophes vivant principalement en saprophyte ; ils forment des structures communautaires sur les substrats vivants ou morts submergés dans la mer. La plus grande partie des espèces est lignicole (se développe sur des substrats en bois) ainsi qu'un bon nombre colonise les algues qui représentent un second réservoir pour eux ; constituant en particulier des associations avec des microalgues ou des cyanobactéries formant de lichens. Certaines espèces sont isolées de sable et de coquille de mollusque. Aussi les plantes et les animaux marins sont des meilleurs habitats dont les éponges (animaux) sont l'habitat le plus étudié pour ces microorganismes.

Toutes ces substrats constituent des habitats idéals pour les champignons marins au même temps ils servent de vecteurs de dispersion ; parce que ces microorganismes sont immobiles mais capables de produire d'énormes quantités de spores assurant leurs dispersion dans le milieu à travers ses supports (Maamar, 2015 ; Stal and Cretoiu, 2016).

Les champignons jouent un rôle central dans les cycles biogéochimiques en raison de leurs grands fonctionnements vitaux aux écosystèmes marins. Ils sont activement agissent dans le cycle d'azote utilisant le nitrate pour leurs respirations dans les sédiments subtoxiques. Ils interviennent aussi dans le cycle de carbone et le recyclage des nutriments donc présentent dans les chaînes alimentaires de l'écosystème ; parce qu'ils sécrètent des enzymes responsables à la dégradation des polymères organiques complexes en des formes plus simples qui deviennent utilisables pour d'autres organismes de réseau trophique et aussi à la décomposition de certaines cadavres des animaux marins, ils réalisent jusqu'à 90% de l'hydrolyse extracellulaire de carbone photosynthétique, en effet les zones riches en carbone organique dissous produit par des organismes autotrophes constituent un lieu idéal pour le développement fongique.

Plusieurs facteurs ont un effet sur l'occurrence et la distribution des mycètes marins qui peuvent inclure des altérations par des paramètres physicochimiques tel que : température, lumière, pH, salinité et pression hydrostatique ou d'autres altérations qui englobent : la disponibilité des substrats (pour la colonisation) ou des matières organiques ou aussi des polluants, la disponibilité en oxygène et essentiellement la compétition d'inhibition (Khusnullina et al., 2018 ; Maamar, 2015 ; Raghukumar, 2012).

Certaines études ont montré une existence de diversité fongique dans les eaux profondes mais qui face à une rude compétition avec d'autres microorganismes dépend entièrement de la production de métabolite secondaire. Certaines souches de *Trichoderma* et d'*Aspergillus* sont également montrées des neurotoxiques vis-à-vis certains d'autres microorganismes ; pour cette raison les mycologues ont conclu que la dominance de certains genres des champignons sur certains substrats marins s'explique par leurs productions de molécules fortement bioactives donc une inhibition spécifique de certains microorganismes pour leurs survies. Par l'ajout de certaines études les chercheurs ont prouvé que cette profonde diversité se traduit aussi par une adaptation à certains paramètres physicochimiques dont les plus étudiés pour les micromycètes sont : la pression hydrostatique élevée et la basse température où ces microorganismes s'adaptent par l'activation des mécanismes de défense qui neutralisent les effets insupportables, en particulier c'est le cas de levure *Saccharomyces cerevisiae* qui subit

des modifications de la composition de la membrane qui sont suggérées par l'expression de certains gènes afin d'augmenter la proportion des acides gras insaturés et la biosynthèse de l'ergostérol après 30 min d'augmentation de pression hydrostatique (Khusnullina et al., 2018; Maamar, 2015; Stal and Cretoiu, 2016).

Les micromycètes marins identifiés sont presque tous analogues aux formes terrestres mais qui représentent des adaptations aux conditions marines, par conséquent deux types de micromycètes sont distingués en fonction de leurs différentes adaptations à ces conditions extrêmes.

- ❖ Micromycètes obligatoires : se développent et se reproduisent exclusivement en milieu marin ou estuarien. Ils représentent un petit pourcentage et une étude trop limitée.
- ❖ Micromycètes facultatifs : sont observés en milieu continental (terrestre et eau douce) et sont également capables de se développer et peut-être de se reproduire dans le milieu marin. Ils sont considérés comme des formes courantes de poussière et de vent qui peuvent produire des spores dormantes dans l'eau de mer (Stal and Cretoiu, 2016).

- **Résistance et biodégradation microfongique vis-à-vis les hydrocarbures**

Les hydrocarbures en tant que polluants les plus organiques forment une source riche en nutriment pour les levures et les moisissures qui sont capables de les résister et/ou dégrader, dont environ 90 % croissent sur ces polluants et environ 20 % qui sont capables de croître et de se nourrir d'eux. En général le processus de dégradation de HAP se fait dans des conditions aérobies et en particulier un mode anaérobie qui s'exprime notamment par les levures. Cette voie métabolique nécessite l'oxydation des HAP dans les microsomes des cellules fongiques contenant des enzymes le plus souvent alcanes-oxygénase qui est responsable au clivage des polymères complexes produisant de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O et d'autres polymères plus simples non toxiques ou moins toxiques. L'une des espèces les plus célèbres *Candida lipolytica* dont les substrats du pétrole brut ont une relation avec sa dégradation la plus prononcée capacités, d'autres certaines souches de *Fusarium*, *Penicillium* et *Aspergillus* capables de dégrader jusqu'à 79 % d'hydrocarbures aliphatiques (Bonnet et al., 2005 ; Daccò et al., 2020).

### **1.3. Les microalgues**

Des eucaryotes microscopiques parmi les plus petits vivants. Les microalgues marines sont également connues de très longue date, elles varient de 200 000 espèces ; bien que la plupart des microalgues marines forment des phytoplanctons microscopiques qui sont appelés également « picoplancton ».

Plusieurs espèces des microalgues marines ont été identifiées ; parmi eux les diatomées et les algues du genre *Dunaliella* qui est le représentant le plus répandu des microorganismes eucaryotes dans les écosystèmes salins.

Les microalgues sont plus faciles à identifier et décrire comme elles montrent des caractéristiques morphologiques plus diverses et distinctes qui peuvent être détectées par microscopie tel que : les parois des cellules de silicate des diatomées (Gerday C et al, 2007; Guézennec, 2014 ; Marteinsson et al., 2016).

### **1.3.1. Mode de vie**

Les microalgues marines sont le moteur de la production de matière primaire des océans ; donc représentent la base du réseau trophique marin.

Les algues autant que microorganismes photosynthétiques ont besoin d'une forte source de lumière néanmoins, certaines espèces qui colonisent les profondeurs ont besoin de très peu de lumière. Cette différence est représentée par les deux souches les plus célèbres : les diatomées qui sont les producteurs dans les couches supérieures du sédiment dans les fonds de mer, alors que certaines espèces de *Dunaliella* sont les principaux planctons producteurs dans la plupart des surfaces des environnements salins ou hypersalins (Oren, 2013 ; Stal and Cretoiu, 2016).

Les microalgues sont bien connues pour leurs capacités à assimiler le CO<sub>2</sub> et à synthétiser le carbone organique, par conséquent elles constituent en association avec les cyanobactéries la principale source de carbone organique pour les microorganismes marine et en particulier pour les bactéries. Jusqu'à un tiers du carbone organique cellulaire est libéré sous forme dissoute (COD) soit lors de la synthèse ou après la lyse virale des microalgues. Elles sont aussi une source de polysaccharides qui constituent la majeure partie de la matière organique car ils représentent environ 70 % du poids sec des algues.

Les algues remplissent également plusieurs autres fonctions importantes au sein de l'écosystème marin ; certaines peuvent produire des proliférations nuisibles pour les microorganismes, d'autres types peuvent également contribuer à la couleur orange-rouge généralement de la saumure dont principalement l'algue verte *Dunaliella salina* est responsable car elle pourvu de pigment  $\beta$  carotène (Gerday C et al, 2007 ; Oren, 2013 ; Stal et al, 2016).

## **PARTIE II**

# **ETUDE EXPERIMENTALE**

# 1

## **Matériel et méthodes**

**L'objectif de notre travail est :**

- Déterminer les valeurs des différents polluants dans des échantillons d'eau de mer prélevés de point de rencontre des canaux de rejets industriels et la mer par mesure des paramètres physicochimiques.
- Mettre en évidence les microorganismes résistants aux rejets industriels après la mise en culture et l'identification par des analyses microbiologiques.

**1. Présentation de zone d'étude**

Pour aboutir notre objectif de travail le site d'échantillonnage est de grande importance d'où le choix d'une zone de sortie des eaux usées de la société algérienne SONATRACH qui est une compagnie de recherche, d'exploitation, de transport par canalisation et de commercialisation des hydrocarbures et de leurs dérivés ; classée 12<sup>ème</sup> parmi les compagnies pétrolières mondiales.

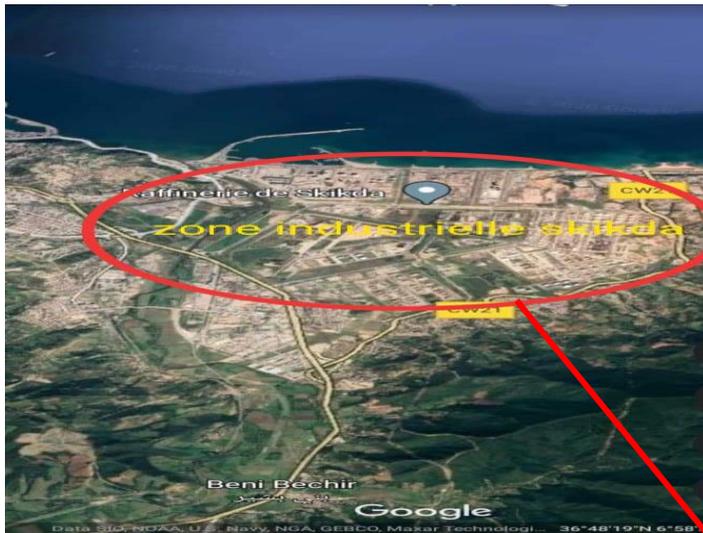
La société SONATRACH est située à l'Est de la ville de Skikda à environ 4km et s'étend sur surface totale de 1200 hectares, regroupant des différentes unités industrielles parmi eux :

CP2K et DRIK (sites exactes d'échantillonnage de notre étude).

**CP2K** : est une unité opérationnelle dans la zone industrielle qui a été mise en exploitation en 2005 sa fonction principale est de produire du polyéthylène à haute densité (PEHD) à partir d'éthylène (principale matière première), se trouve à une hauteur moyenne de 6m au-dessus de la mer.

**DRIK** : La direction régionale de la zone industrielle Skikda a été mise en service en 1984, elle représente l'administration et la gestion de la zone industrielle, parmi ses activités :

- La gestion des infrastructures communes (ouvrages, équipements, voiries, réseaux)
- Gestion du plan de sûreté interne de la plate-forme.
- Soutien en matière de lutte anti-incendie.
- Sécurité et protection des installations industrielles (Mohamed ben ali, 2014).



**Figure 4.** Image satellitaire de zone industrielle Skikda (Google earth, 2020).



**Figure 5.** Position géographique des unités CP2K et DRIK (Mohamed ben ali, 2014).

## **2. Prélèvement des échantillons**

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est un processus délicat ; nécessite de nombreuses précautions de façon à éviter toute contamination accidentelle lors de sa prise suivant un mode opératoire précis, il convient que la personne préleveur ait une connaissance précise d'importance du prélèvement pour la qualité des résultats analytiques (Rodier, 2009).

## 2.1. Technique de prélèvement

L'échantillonnage a été réalisé comme suit :

- Les flacons conçus pour les prélèvements sont préalablement lavés, rincés pour éliminer toute trace d'un éventuel détergent puis égouttés soigneusement et séchés dans un Stérilisateur UV pendant 2h (figure 6).
- L'étiquetage des flacons à l'aide d'une étiquette stable et ineffaçable. Les feutres et les marqueurs contenant des solvants sont à proscrire afin d'éviter toute contamination de l'échantillon. Les étiquettes comportent les informations suivantes : le site concerné ou un code permettant de l'identifier, la date et l'heure d'échantillonnage aussi que la température du jour même.
- Au moment du prélèvement, les flacons ont été rincés trois fois avec de l'eau à analyser selon les recommandations.
- Le prélèvement a été effectué manuellement sur les deux sites de prélèvement, les flacons ont été plongés jusqu'à 20 cm de profondeur (figure 7), ils ont été dirigés dans le sens contraire au courant de l'eau de mer. Le flacon rempli d'eau a été retiré du plan d'eau et fermé hermétiquement (Rodier, 2009).



**Figure 6.** Stérilisateur UV des flacons en verre et bouchons en PEHD.



**Figure 7.** Prélèvement manuelle des échantillons d'eau de mer.

- Les échantillons ont été prélevés aux canaux de rejets des eaux issues des deux unités précédentes : CP2K (**P1** : rejet industriel) et DRIK (**P2** : rejet urbain et industriel) déversés directement dans la mer (figure 8 et 9).
- Pour chaque site, un échantillon d'eau d'un volume de 250 ml a été prélevé. Pour cette étude quatre prélèvements ont été effectués.



**Figure 8.** Canal de rejet du complexe CP2K.



**Figure 9.** Canal de rejet du complexe DRIK.

## **2.2. Transport et conservation des échantillons**

La teneur initiale en microorganismes dans l'eau risque de subir des modifications dans le flacon après le prélèvement, c'est pour cela que toute analyse doit être effectuée le plus rapidement possible. Les prélèvements ont été transportés dans des glacières à l'abri de la lumière dont la température doit être comprise entre 4 à 6°C et l'analyse bactériologique est faite dans un délai ne dépassant pas 24h (Rejsek, 2002).

## **3. Analyses physicochimiques des échantillons**

Les modes opératoires et les méthodes de dosages utilisés sont décrits dans les catalogues de l'appareillage utilisé (laboratoire d'analyses physicochimiques d'unité de DRIK-SONATRACH-SKIKDA).

### **3.1. Analyses essentielles et de routine : in situ**

Certains paramètres physicochimiques ont été réalisés sur place (terrain) car ses valeurs changent très rapidement dans les échantillons prélevés.

- **Température, pH, salinité, TDS, et conductivité électrique** ont été mesuré à l'aide d'un appareil multi paramètres préalablement calibrés de type **Hach HQ40d Multi**.
- **L'oxygène dissous** a été mesuré in situ à l'aide d'un oxymètre portable : **Sension+ DO6 Hach**.
- ❖ **Mode opératoire :**
  - L'appareil a été étalonné par un produit d'étalonnage avant la mesure.
  - Les sondes ont été rincées par l'eau distillée.

- Un récipient a été rempli avec une quantité suffisante d'eau de mer pour l'immersion des sondes.
- Les valeurs ont été affichées directement sur l'écran d'appareil après stabilisation.

Dans le premier cas, les sondes sont rincées à l'eau distillée puis tamponnées avec du papier absorbant après chaque mesure et pour chaque échantillon afin d'éviter que les résultats ne soient pas erronés.

➤ **La turbidité** : a été mesuré par le turbidimètre portable : **EUTECH TN-100**.

❖ **Mode opératoire** :

- Etalonnage par la solution fournie avec l'appareil afin d'apporter les corrections nécessaires.
- Remplir l'échantillon d'eau de mer jusqu'au trait de la cuvette (environ 30ml)
- Placer la cuvette dans le puits de mesure et fermer le capot.
- Lire lorsque le signal est stable et noter le résultat (figure 10).



**Figure 10.** Appareils portables de mesure: Oxymètre, Turbidimètre, Multi paramètres.

### 3.2. Analyses réalisés au laboratoire

➤ **MES** : a été mesuré par la méthode de filtration à l'aide d'appareil **de filtration sous vide en verre** (figure 11).

❖ **Mode opératoire** :

- Peser un disque filtre dans une balance de précision jusqu'à obtention d'un poids stable, c'est le  $P_1$ .
- À l'aide d'une pince, placer le filtre sur la rampe de filtration exactement sur le support de filtre et mettre l'entonnoir en sa place au-dessus de filtre.
- Verser un volume d'échantillon ( $V=100$  ml) jusqu'à filtration complète.
- Récupérer le filtre et le mettre à l'étuve à  $150^{\circ}\text{C}$  pendant 45 minutes.
- Mettre le filtre dans le dessiccateur pendant 15 m jusqu'à refroidissement total.

- Enlever le filtre puis le peser encore, c'est le P<sub>2</sub>.
- La concentration des matières en suspension (MES) est exprimé comme suit :

$$\text{MES (mg /l)} = [(P_2 - P_1) / V] \cdot 10^6$$



**Figure 11.** Appareil de filtration sous vide.

- **DBO<sub>5</sub>** : a été mesurée à l'aide d'un appareil manométrique : **OxiTop® Box WTW**.
- ❖ **Mode opératoire :**
  - Mettre 100ml d'échantillon dans les DBO-mètres (bouteilles d'échantillon marron en verre).
  - Mettre le barreau magnétique pour l'agitation dans le flacon, ajouter NaOH. Puis insérer le godet dans le goulot de flacon.
  - Ajouter deux pastilles de C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>S à l'aide d'une pince, il joue un rôle d'inhibiteur d'absorption d'O<sub>2</sub> par les substances issues de la réaction empêchant la mesure.
  - Fermer hermétiquement le flacon avec l'oxitop.
  - Commencer la mesure : Presser simultanément les touches M et S pendant 2 secondes, l'afficheur indique 00.
  - Garder le flacon avec l'OxiTop 5 jours dans appareil manométrique. L'Oxitop démarre automatiquement la mesure de consommation en oxygène.

Condition de l'expérience : obscurité + température = 20°C+ l'agitation, après 5 jour on prend les résultats.

➤ **Analyse des polluants chimiques**

Toutes ces analyses ont été effectuées par la technique de dosage utilisant des différents réactifs spécifiques de chaque type analyse, les résultats ont été lu dans un spectrophotomètre de type : **Spectroquant® pharo 300** qui a été équilibré par des étalons de chacun d'eux.

- **DCO** : le réactif de DCO est déjà préparé dans le tube à essai, on ajoute 3ml d'échantillon dilué dans 47ml d'eau distillé, après homogénéisation on le place dans l'étuve à 150°C pendant 2h, puis on passe à la lecture.
- **Pb** : 0.5ml de réactif Pb1 avec 0.5ml de réactif 2, on met 8ml d'échantillon, après homogénéisation, on laisse agir 5min puis on passe à la lecture.
- **Fer** : une goutte de réactif Fer1 et 0.5ml de réactif 2 avec 8ml d'échantillon, on homogénéise bien ; laisser agir 5min pour faire la 1<sup>ère</sup> lecture, puis 10min pour passer à la 2<sup>ème</sup> lecture ; la Valeur moyenne = lecture2 – lecture1.
- **Phénol** : 1ml de réactif Ph1, une dose du 2<sup>ème</sup> et une micro cuillère du 3<sup>ème</sup>, puis on ajoute 8ml d'échantillon, après homogénéisation on passe à la lecture.

Les échantillons ont été pipeté à l'aide des micropipettes.

- **Dosage des hydrocarbures** : a été effectué dans un appareil de séparation des hydrocarbures de type : **HORIBA Oil Content Analyzer 310** (figure 12).

❖ **Mode opératoire :**

- Verser 10ml de solvant pur dans la cuve d'extraction à l'aide d'une seringue pour facilite leur injection sans risque de contamination.
- Ouvrir la vanne de drain pour sortir le solvant, puis fermer la vanne.
- Ajouter une goutte d'acide chlorhydrique.
- Ajouter 20ml de l'échantillon dilué d'eau dans la cuve d'extraction.
- Lancer l'extraction pendant 40sec pour le mélange et la séparation.
- Ouvrir la vanne d'extraction.
- Attendre la stabilisation de la mesure, puis fermer la vanne d'extraction.
- Ouvrir la vanne de drain, puis fermer la.
- Ouvrir la vanne d'extraction et appuyer sur le bouton mesure.
- Lire l'écran LCD de mesure.



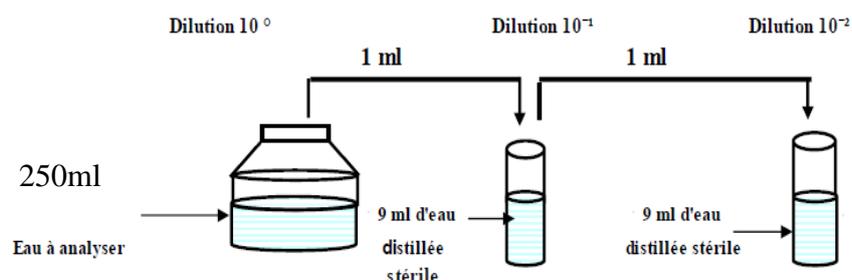
**Figure 12.** Appareil de séparation des hydrocarbures.

#### 4. Analyses microbiologiques des échantillons

L'étude microbiologique des échantillons a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université 8 Mai 1945- Guelma.

**4.1. Préparation des milieux de culture :** dans notre pratique on a utilisé trois milieux de culture : gélose nutritive GN, gélose Chapman (milieu sélectif pour les bactéries halophile) et Gélose glucosé (OGA) pour la culture des champignons.

**4.2. Dilution décimale :** une série de dilutions a été réalisée jusqu'à  $10^{-2}$  à partir de solution mère ( $10^0$ ) pour les deux échantillons différents (P1 et P2) (figure 13).



**Figure 13.** Technique de dilution décimale d'échantillon d'eau de mer.

**4.3. Mise en culture des échantillons :** dans une zone stérile du bec bunsen.

À la surface de la gélose, l'ensemencement a été réalisé suivant la méthode du râteau en concentration décroissante d'eau de mer :

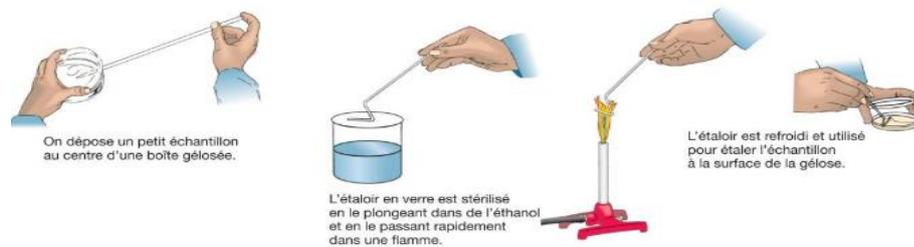
Premier prélèvement P1 : trois boîtes pour chaque dilution (9 boîtes en total).

Deuxième prélèvement P2 : trois boîtes pour chaque dilution (9 boîtes en total).

❖ **Mode opératoire :**

Les boîtes de Pétri stériles préalablement préparées, ont étéensemencées comme suit :

- Vérifier que la surface est complètement sèche afin d'éviter la formation d'une couche de colonies sur la boîte de pétri.
- Déposer 0.1ml d'échantillon bien homogénéisé à la surface de la gélose à l'aide d'une pipette Pasteur coudée, puis l'étaler de façon uniforme (figure14) (Camille, 2014).



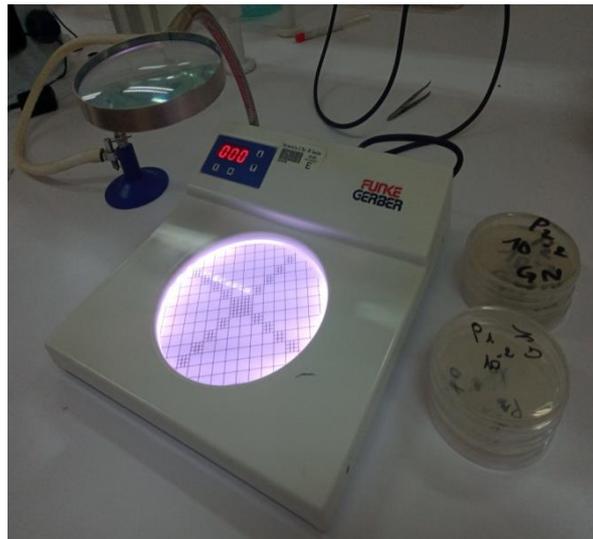
**Figure 14.** Technique d'ensemencement par la méthode du râteau (Camille, 2014).

- Les boîtesensemencées ont été fermées avec un ruban adhésif et mises à incuber :
  - À température 37 C° pendant 24h / 48 h pour les boîtes de GN et Chapman.
  - À température ambiante pendant 5 jours pour les boîtes d'OGA.

**4.4. Dénombrement ou comptage des colonies :**

Après apparition des colonies, les boîtes de pétri doivent être examinées immédiatement.

On compte les colonies à l'aide d'un compteur de colonies à affichage numérique et en même temps un signal sonore (Bip) valide le comptage (figure15).



**Figure 15.** Compteur des colonies à affichage numérique.

#### **4.5. Identification des souches :**

➤ **Les bactéries**

❖ **Examen macroscopique :**

Cet examen nous permet d'observer à l'œil nu quelques caractères de la colonie, il s'agit de son aspect, sa couleur, sa forme, sa taille, et son relief.

❖ **Examen microscopique :**

Coloration de Gram (Gram-Hucker) :

La coloration de Gram permet effectivement de diviser le monde des bactéries en deux groupes distincts, les bactéries "Gram positif" qui apparaissent en violet foncé et les bactéries "Gram négatif" se colorent en rose après la coloration.

- Préparer un frottis à partir d'une culture bactérienne, et la fixer à la chaleur par passages répétés sur la flamme du bec Bunsen.
- Recouvrir le frottis de violet de Gentiane; laisser agir pendant 1 minute, rincer à l'eau.
- Ajouter le lugol et laisser agir 1 minute, rincer à l'eau.
- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes, rincer à l'eau.
- Recolorer avec de la fuchsine pendant 10 à 30 secondes, rincer à l'eau.
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec bunsen.
- Observation au microscope à l'objectif (x100) à immersion, après dépôt d'une goutte d'huile de cèdre (Camille, 2014).

➤ **Les champignons**

❖ **Examen macroscopique :**

Cet examen nous permet d'observer à l'œil nu : la consistance de la colonie (glabre, duveteuse, poudreuse, cotonneuse), la couleur (du recto et du verso; la présence d'un pigment diffusible dans la gélose et la taille).

❖ **Examen microscopique :**

Technique du drapeau de Roth :

- Contacter un petit morceau de papier adhésif avec la colonie (déposer du bord vers le centre).
- Décoller délicatement de la colonie et recoller sur une lame avec une goutte de bleu de méthylène.
- Observation au microscope à l'objectif (x40) à immersion (Maamar, 2015).

**2**

## **Résultats et discussion**

## 1. Résultats des analyses des échantillons de l'eau de mer

Les caractéristiques de notre échantillons des deux sites de prélèvement (CP2K : P1 et DRIK : P2) sont mentionnées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau X.** Propriétés des échantillons prélevés des deux sites d'étude.

sites de prélèvement	Etiquette des flacons	Date de prélèvement	Heure de prélèvement	Types d'analyses	Température
CP2K	P1	26/02/2020	9h23m	Bactériologique	14 C°
	P3		9h28m	Physicochimiques	
DRIK	P2		9h43m	Bactériologique	14 C°
	P4		9h50m	Physicochimiques	

### 1.1. Les paramètres physicochimiques

Les résultats des analyses physicochimiques des échantillons d'eau de mer prélevés au niveau des 2 sites (CP2K : P1 et DRIK : P2) sont résumés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau XI.** Résultats des paramètres physicochimiques des deux sites de prélèvement ("Journal officiel de la république Algérienne N° 26," 2006).

Paramètres	Unité	Valeurs du CP2K	Valeurs du DRIK	Normes
Température	°C	16.3	16.9	25-30
pH	-	8.30	8.40	6,5-8,5
Conductivité	µS/Cm	48 600	49 300	30 000
TDS	mg/l	30 500	30 100	-
Salinité	‰	31,800	32,300	35,000
O <sub>2</sub> dissous	%	54.2	54.9	36.0
Turbidité	NTU	4.28	1.97	-
MES	mg/l	210	205	25-30
DBO <sub>5</sub>	mg/l	20	20	35
DCO	mg/l	34	35	100-120
HAP	mg/l	0.00	0.00	10-15
Phénol	mg/l	Trace	Trace	0,3
Pb	mg/l	0.57	0.61	0,75
Fer	mg/l	0,39	0,33	5

- **Température :**

À travers ce tableau, on constate que sur les deux sites de prélèvement (CP2K : P1 et DRIK : P2) les valeurs de la température montrent une légère différence entre eux qui n'est pas assez remarquable P1 : 16,3°C et P2 : 16,9°C, mais ces valeurs sont inférieures à la valeur moyenne qui est de l'ordre de 25°C selon le journal officiel de la république Algérienne N° 26 (2006). D'après les informations fournissent par laboratoire d'analyses physicochimiques d'unité de DRIK-SONATRACH-SKIKDA ; les sources thermiques dans ces deux complexes sont absentes sachant que DRIK ne possède pas une production, tandis que sa mission principale est bien déterminée (dans la partie Matériel et méthode), alors que les rejets de CP2K n'ont aucun effet thermique sur l'eau de la zone. Alors que le facteur unique influençant la variation des valeurs est la température d'air qu'elle agisse sur la couche superficielle de la mer autant que nos prélèvements ont été effectués en mois de Février (tableau X) (Mohamed ben ali, 2014).

- **Potentiel hydrogène (pH) :**

Le tableau montre que la valeur du pH de P1 est de 8.30, alors qu'elle est de l'ordre de 8.40 dans le P2. Les deux valeurs représentent un pH alcalin et selon Gerday C and Glansdorff N. (2007) elles appartiennent à l'intervalle du pH de l'eau de mer normale (6,5-8,5), donc la qualité d'eau de mer dans la région d'étude est acceptable.

Cette différence infime des valeurs entre les deux sites est liée aux légères variations de la température et s'explique aussi par l'origine des effluents, sachant que le canal de DRIK déverse un mélange des eaux usées de quelques complexes et des eaux urbaines alors que CP2K déverse des eaux usées issues de la production de PEHD (Mohamed ben ali, 2014).

- **Conductivité électrique :**

Les valeurs de la conductivité des eaux de mer polluées par les rejets des deux complexes sont 48 600  $\mu\text{S}/\text{cm}$  pour le P1 et 49 300  $\mu\text{S}/\text{cm}$  pour le P2 (tableau XI), l'augmentation de la conductivité de ce dernier site par rapport à l'autre est due à la nature des ions dissous et de leurs concentrations. Ces valeurs sont excessivement élevées et dépassent la limite de la conductivité des eaux marines qui est de l'ordre de 30 000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , ce qui est expliqué par une minéralisation très forte donc une forte mobilisation des ions. Ceci reflète un traitement chimique intense des eaux rejetées (Mezejri, 2008; Rejsek, 2002; Rodier, 2009).

- **Salinité et TDS :**

La salinité désigne la masse totale des substances solides dissoutes (TDS) dans un kilogramme d'eau de mer (Rodier, 2009).

Les résultats du tableau montrent que les valeurs de TDS et de salinité des deux sites de prélèvement (P1 et P2) sont : 30500 mg/l et 30100 mg/l, 31,800‰ et 32,300‰ successivement. Cette différence remarquable entre les valeurs est expliquée par un fort débit d'eau de canal du CP2K dans la mer par rapport au canal de DRIK avec une quantité plus importante d'eau rejetée du premier site, donc une élévation du niveau de la mer à cause de la dilution selon Mitra and Zaman (2016), ce qui implique une diminution de la concentration des sels : un faible taux de TDS. Alors que les deux valeurs sont inférieures à la norme qui est de l'ordre de 35,000‰ selon Copin-Montegut (2002), car la salinité représente une importante variation spatio-temporelle. Cette variation est sous l'effet des activités anthropiques et des changements climatiques principalement l'évaporation et la température qui joue un rôle très important dans la solubilité des sels (Mitra and Zaman, 2016).

- **O<sub>2</sub> dissous :**

D'après les résultats obtenus, une valeur de 54.2% Pour CP2K, et 54.9% (tableau XI) pour celle de DRIK. Cette légère variation est influencée par la température qui joue un rôle dans la saturation d'O<sub>2</sub> dissous car la concentration de ce dernier croît quand la température de l'eau s'abaisse (Aminot and Kérouel, 2004).

Selon le journal officiel de la république Algérienne N° 26 (2006) la concentration d'O<sub>2</sub> dissous des deux sites est plus supérieure à la norme 36%. L'augmentation de taux d'O<sub>2</sub> dissous peut être expliquée par la diminution de la charge des matières organiques dégradables par les microorganismes dans la zone d'étude dans la période de prélèvement, car il intervient principalement dans la dégradation des polluants dans le domaine de l'épuration, donc c'est un signal de pollution marine (Rejsek, 2002). Ainsi que l'influence d'autres facteurs biologiques principalement les cycles biogéochimiques des algues aquatiques (se nourrissent de phosphate qui se trouve dans les rejets industriels), libérant des quantités considérables d'oxygène issues de l'activité photosynthétique (Dovonou et al., 2012; Secondat, 1952).

- **Turbidité :**

Le tableau XI représente des variations remarquables de turbidité par une valeur minimale de 1.97 NTU enregistrée au niveau de DRIK (P2), et une valeur maximale de 4.28 NTU

enregistrée au niveau de CP2K (P1). La turbidité de ce dernier est très élevée par rapport à l'autre à cause de l'augmentation des matières en suspensions dans les rejets industriels de ce site, parce que la présence des déchets dans la mer peut causer l'augmentation de la turbidité, bloquant la lumière essentielle du soleil. Donc la pollution est plus importante dans le site CP2K que DRIK concernant ce paramètre (Rodier, 2009 ; Sheavly and Register, 2007).

- **MES :**

Selon le journal officiel de la république Algérienne N° 26 (2006) les teneurs de MES sont comprises entre 25-30 mg /l. Nos valeurs sont très élevées (8 fois supérieures à la norme) de 210mg /l pour (CP2K : P1) et 205mg/l pour (DRIK : P2). L'augmentation des résultats est due à la nature des rejets industriels et urbains par la présence de nombreux détruits solides de petites tailles. On conclue que la région d'étude est polluée car un taux élevé de matières en suspensions causent une pollution marine (Beiras, 2018 ; Makhoukh et al., 2011).

- **DBO<sub>5</sub> :**

Les valeurs des DBO<sub>5</sub> des deux sites de prélèvement sont égales : 20mg /l (tableau XI), ce paramètre autant qu'indicateur de pollution indique l'existence d'une pollution chimique légère qui reste au-dessous de la norme : 35mg /l. Ces valeurs de DBO<sub>5</sub> peuvent être liées à la présence des produits chimiques qui sert à un obstacle d'activité biologique, ainsi qu'un taux élevé d'O<sub>2</sub> dissous qui est en rapport directe avec elles (Fathallah et al., 2014 ; Mezejri, 2008).

- **DCO :**

Les valeurs de la demande chimique en oxygène enregistrées au niveau de CP2K et DRIK sont proches : 34mg /l et 35mg/l successivement (tableau XI). Ces résultats sont inférieurs à la norme 100 mg /l fixé par le journal officiel de la république Algérienne N° 26 (2006), ils correspondent au taux élevé d'O<sub>2</sub> dissous donc une faible oxydation de la matière organique et minérale dans l'eau, cela indique que ces deux sites représentent une légère pollution chimique (Dovonou et al., 2012 ; Fathallah et al., 2014).

- **HAP :**

Les valeurs des HAP de chacun des 2 sites CP2K et DRIK sont nulles 0.00mg /l, tandis que la norme fixé par le journal officiel de la république Algérienne N° 26 (2006) est entre 10-15mg/l, donc une absence de pollution par les hydrocarbures (gaz et pétrole).

Si en comparant nos résultats avec ceux révélés par Mezdjri, (2008) [les valeurs varient entre 0.00 et 22mg/l pour DRIK. Cette dernière valeur est bien supérieure à la norme] on estime que la DRIK à donner plus de rigueur et de contrôle à ces rejets, bien que la source de rejets de la DRIK est essentiellement due à la maintenance et le nettoyage. Si on les compare avec ceux révélés par Mohamed ben ali, (2014) [une valeur maximale de 10mg/l pour CP2K qui est inférieur à la norme mais constitue un risque de pollution], sachant que la nature de la production dans ce complexe est la polymérisation à haute densité, cette valeur est peut être due à un accident survenu au sein du complexe ou des fuites d'hydrocarbures proviennent à partir d'autres sources.

- **Phénol, Pb, Fer :**

Toutes les valeurs de phénol, du Plomb et de Fer représentées dans le (tableau XI) restent faibles dans les deux stations de prélèvement. Tandis que les normes Algériennes tolèrent un maximum de 0.3mg/l pour le phénol, 0.75mg/l pour le Pb et 5mg/l pour le Fer ("Journal officiel de la république Algérienne N° 26, 2006," 2006).

Les résultats de ces analyses montrent que les valeurs sont acceptables et indiquent une absence de pollution marine par les métaux lourds, tandis que les faibles quantités présentes sont due aux quelques processus naturels qui finissent dans la mer tel que : la présence de Fer dans l'eau de mer par le processus d'érosion (Brasilia, 2013).

## **1.2. Les analyses microbiologiques**

L'isolement et l'identification des souches à partir de l'eau de mer prélevée des sites industriels a permis de diviser deux types de microorganismes différents sur des milieux différents ainsi qu'à la dilution.

### **1.2.1. Les bactéries**

Les résultats obtenus à partir des dilutions  $10^{-2}$  car la charge bactérienne est la moins importante est celle qui a permis un meilleur comptage des colonies

➤ **Résultats du dénombrement :**

Après le temps nécessaire d'incubation des souches bactériennes, nous avons obtenu les résultats de dénombrement suivants (tableau XII) :

Tableau XII. Résultats de dénombrement de culture bactérienne en UFC/ml.

point de prélèvement	Milieux de culture	Nombre de colonies			Nombre de bactéries en UFC/ml
P1 10 <sup>-2</sup>	Gélose nutritive	90	160	80	1×10 <sup>5</sup>
P2 10 <sup>-2</sup>		150	123	70	1.14×10 <sup>5</sup>
P1 10 <sup>-2</sup>	Milieu Chapman	48	60	81	6.3×10 <sup>4</sup>
P2 10 <sup>-2</sup>		90	102	100	9.7×10 <sup>4</sup>

Nombre de bactéries = La moyenne de colonies / volume d'inoculation × l'inverse de dilution.

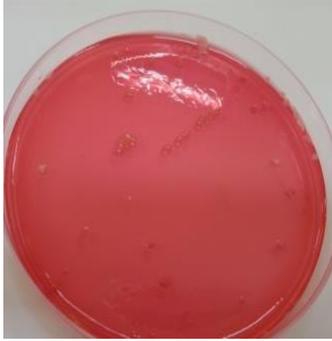
Le dénombrement des bactéries dans nos échantillons d'eau de mer à partir des deux sites de prélèvement sont représentés dans le tableau XII. Ce tableau montre qu'après mise en culture dans la gélose nutritive des deux sites de prélèvements les valeurs (P1 : 10<sup>5</sup>, P2 : 1.14×10<sup>5</sup>) sont proches avec une légère différence, et probablement en accord avec ceux de Jenkins et al. (1998) qui ont rapporté que l'abondance des bactéries marines est de 10<sup>5</sup> cellules/ml d'eau de mer en moyenne. Ces nombres peuvent être liés aux résultats des paramètres physicochimiques des deux stations qui représentent une pollution qui n'a pas assez d'effets sur le nombre de bactéries. Bien que les types de rejets qui sont différents où l'augmentation infime dans DRIK des rejets urbains qui peuvent introduire des bactéries contaminantes dans la mer ce qui est aussi démontré par certains travaux comme ceux de Beiras,(2018) ; Jenkins et al. (1998) et Sassoubre et al. (2015).

Le nombre des bactéries après mise en culture dans la gélose Chapman des deux sites de prélèvements (P1 : 6.3×10<sup>4</sup>, P2 : 9.7×10<sup>4</sup>) est inférieur à celui trouvé dans les travaux de Jenkins et al. (1998). Généralement ce milieu est sélectif aux bactéries tolérantes aux fortes concentrations en sel ce qui est le cas de notre prélèvement et ces bactéries constituent le 4/5 de la flore microbienne totale dénombrée dans la gélose nutritive.

➤ **Aspects macroscopiques :**

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement. Les colonies qui ont poussé sur les deux milieux gélosés utilisées GN et Chapman sont résumées dans le tableau suivant :

**Tableau XIII.** Observation macroscopique de culture bactérienne.

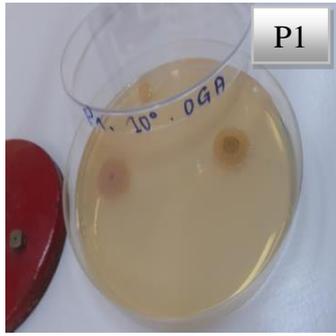
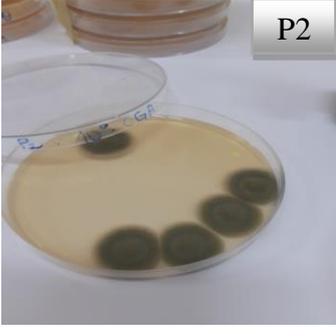
Milieux de culture	Observation macroscopique		
Gélose Nutritive	P1 10 <sup>-2</sup>	P2 10 <sup>-2</sup>	
	Colonies blanchâtres moyennes (2 mm de diamètre), rondes et bombées. Colonies transparentes petites irrégulières, lisses.	Colonies blanchâtres de taille moyenne, rondes et bombées. Colonies transparentes de taille moyenne, rondes et bombées	
Chapman	Colonies moyennes blanches, rondes, bombés et lisses Colonies transparentes lisses, bombés et rondes	Colonies moyennes blanches, rondes, bombées et lisses Colonies transparentes lisses, bombés et rondes	

➤ **Aspects microscopiques des bactéries :** on n'a pas eu le temps de l'accomplir vu les conditions de la pandémie de Corona virus (COVID-19).

**1.2.2. Les champignons**

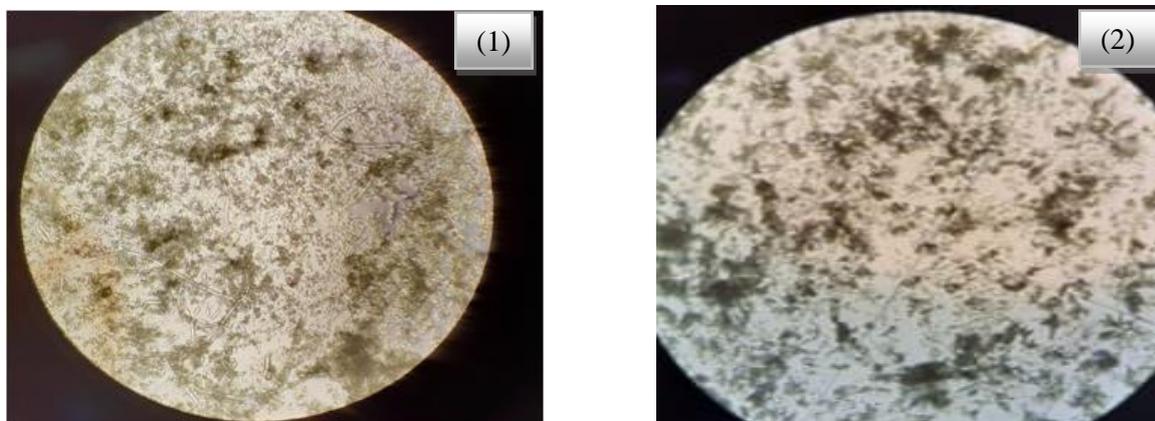
Les cultures fongiques ont été visibles seulement dans les milieux contenant la solution mère 10<sup>0</sup> pour les deux sites de prélèvement.

**Tableau XIV.** Observation macroscopique de culture fongique âgée de 5 jours.

Milieux de culture	Observation macroscopique		
	P1 10 <sup>0</sup>	P2 10 <sup>0</sup>	
OGA	Colonies moyennes, veloutées, jaunes de centre brun.	Colonies de grande taille, cotonneuses, plissées, vertes de contour et centre foncé.	 

➤ **Aspects microscopiques des champignons :**

L'observation microscopique des colonies du P2 sur milieu OGA par technique de drapeau permet d'effectuer une identification fongique, les résultats observés avec et sans coloration sont (figure 16) :



**Figure16.** Observation microscopique de souche fongique du P2 avec coloration (1) et sans coloration (2) au bleu de méthylène objectif (×40).

D'après les résultats obtenues 2 types de micromycètes ont été isolés et identifiés dont chaque type appartient à un site de prélèvement :

- ***Aspergillus nidulans* :**

Ce champignon filamenteux représente une croissance rapide (3 à 5 jours) sur milieu OGA.

Il se distingue par ses colonies duveteuses à poudreuses de couleur habituellement vert foncé ou vert cresson (Figure du P2 dans le tableau XIV). Ses conidiophores sont courts et bruns avec des têtes en colonne bisériées et des vésicules sphériques ou ovoïdes. Présence de « Hülle cells » : cellules arrondies (10 à 20 µm de diamètre), à paroi très épaisse et réfringente, éparses sur le mycélium végétatif. Ces aspects ressemblent bien à ceux dans les travaux de Maamar, (2015) qui travaillait aussi sur la pollution marine dans les eaux algériennes et de Chabasse et al. (2002) qui travaillait sur l'identification des champignons.

Ce champignon représente une culture pure qui a été poussée rapidement malgré les conditions du site de DRIK qui marque une présence de pollution par le taux élevé d'O<sub>2</sub> dissous et MES, aussi de certains paramètres physiques déséquilibrés : conductivité et turbidité, donc une tolérance aux conditions extrêmes par rapport aux conditions de culture de champignons.

- ***Aspergillus versicolor* :**

Pour ce champignon, l'aspect microscopique n'est pas fait, on s'est uniquement basé sur l'aspect macroscopique.

Ce champignon filamenteux représente une croissance lente (5 à 7 jours) sur milieu OGA.

Il se distingue par ses colonies peu extensives d'abord blanches, puis de couleur variée, rosée, jaunâtre avec un centre vert, parfois sur une même colonie (Figure du P1 dans le tableau XIV). L'aspect macroscopique est plus proche à celui décrit dans l'étude de Chabasse et al. (2002).

Ce champignon a poussé malgré les conditions du site de CP2K qui indique aussi une tolérance aux conditions du milieu d'échantillonnage.

- Ces deux champignons sont aussi très utilisés en biotechnologie ce qui était rapporté dans plusieurs études dont celle de Ribeiro et al. (2014) et de Qaisar et al. (2014) qui montrent un grand potentiel de ces organismes qui pourraient facilement être utilisés pour la production de différents enzymes à intérêt industriel et économique à l'aide de biomasse renouvelable et dans des conditions extrêmes de tolérances.

# **Conclusion et perspectives**

## **Conclusion et perspectives**

Les analyses physicochimiques et microbiologiques d'eau de mer polluée industriellement sont des moyens essentiels pour les futures études et des stratégies pour lutter efficacement contre la pollution marine provenant d'une source industrielle. La combinaison des données des analyses permet d'indiquer le degré de pollution marine causé par des différents polluants industriels, et d'identifier les microorganismes notamment les bactéries et les champignons qui résistent aux ces polluants et qui peuvent aussi contribuer à la dégradation des polluants.

Ce qui est remarquable dans ces résultats de recherche et d'identification surtout de champignons qu'on a mené dès le début de notre travail et qui est l'objectif de ce projet c'est la recherche des microorganismes d'intérêt biotechnologique qui peuvent être utilisé dans le but de dépollution ou pour d'autres raisons industriels et pharmaceutiques.

La conclusion de ce travail se résume aux points suivants :

- Les valeurs élevés de certains paramètres physicochimiques : turbidité, conductivité, MES et O<sub>2</sub> dissous dépassant les normes indiquent la présence d'une pollution dans les deux sites de prélèvement.
- La réalisation d'un traitement efficace vis-à-vis les hydrocarbures et les métaux lourds au niveau des complexes industriels est nécessaire pour le maintien de la qualité d'eau de mer et la survie des microorganismes qui peuvent être totalement absents dans le cas des quantités accrues de ces deux paramètres.
- Le genre *Aspergillus* est plus dominant, et résiste mieux aux présences de certaines valeurs de polluants industriels dans l'eau de mer, parce qu'après la mise en culture on a identifié deux espèces appartenant de ce genre : *Aspergillus nidulans* et *Aspergillus versicolor*.
- Une résistance des souches bactériennes à la pollution marine a été mise en évidence par le dénombrement bactérien qui ne dépasse pas la valeur limite.
- Le degré de pollution dans les zones d'étude n'est pas suffisant pour surpasser le mécanisme de résistance des microorganismes et les tuer.

A la lumière des résultats obtenus, il est souhaitable de compléter cette étude par des approches plus approfondies, à savoir :

- La multiplication des sites de prélèvement et du nombre d'échantillonnage avec des prélèvements saisonniers.
- Une approche moléculaire par le séquençage de nos souches isolées aiderait à déterminer de façon précise leur affiliation phylogénique.
- Une analyse quantitative détaillée de la biodégradation pour chaque souche par une chromatographie en phase gazeuse.

# **Références bibliographiques**

- Aminot, A., K erouel, R., 2004. Hydrologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses. Editions Quae.
- Armon, R.H., Hänninen, O. (Eds.), 2015. Environmental Indicators. Springer Netherlands, Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-9499-2>
- Balasubramanian, V., Natarajan, K., Hemambika, B., Ramesh, N., Sumathi, C.S., Kottaimuthu, R., Rajesh Kannan, V., 2010. High-density polyethylene (HDPE)-degrading potential bacteria from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India. *Lett. Appl. Microbiol.* 51, 205–211. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02883.x>
- Beiras, R., 2018a. Basic Concepts, in: *Marine Pollution*. Elsevier, pp. 3–20. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813736-9.00001-5>
- Beiras, R., 2018b. Microbial Pollution, in: *Marine Pollution*. Elsevier, pp. 41–51. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813736-9.00004-0>
- Beiras, R., 2018c. Distribution of Pollutants in the Marine Environment, in: *Marine Pollution*. Elsevier, pp. 167–185. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813736-9.00010-6>
- Beiras, R., 2018d. Effects of Pollution on Populations, Communities, and Ecosystems, in: *Marine Pollution*. Elsevier, pp. 247–261. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813736-9.00015-5>
- Benaissa, A., Mohamed, S., 1992. Résistance bactérienne aux métaux lourds chez les souches isolées des moules du littoral Atlantique Marocain. *Hydro cologie Appliquée* 4, 1–7.
- Berland, B.R., Bianchi, M.G., Maestrini, S.Y., 1969. Etude des bactéries associées aux Algues marines en culture: I. Détermination préliminaire des espèces. *Marine Biol.* 2, 350–355. <https://doi.org/10.1007/BF00355715>
- Bianchi, A., Garcin, J., Gorsky, G., Poulicek, M., Tholosan, O., 1999. Stimulation du potentiel de dégradation dans les eaux marines profondes par les bactéries barotol rantes colonisant les fèces du plancton migrateur. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 322, 1113–1120. [https://doi.org/10.1016/S0764-4469\(99\)00111-0](https://doi.org/10.1016/S0764-4469(99)00111-0)

- Bliefert, C., Perraud, R., 2007. Chimie de l'environnement: Air, eau, sols, déchets. De Boeck Supérieur.
- Bonnet, J.L., Guiraud, P., Dusser, M., Kadri, M., Laffosse, J., Steiman, R., Bohatier, J., 2005. Assessment of anthracene toxicity toward environmental eukaryotic microorganisms: *Tetrahymena pyriformis* and selected micromycetes. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60, 87–100. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.10.001>
- Bourouache, M., Mimouni, R., Ait Alla, A., Hamadi, F., El Boulani, A., Bihadassen, B., 2019. Bacteriological and physicochemical quality of treated wastewater of the Mzar treatment plant. *Appl Water Sci* 9, 86. <https://doi.org/10.1007/s13201-019-0958-0>
- Brasilia, 2013. Manuel Pratique d'analyse de l'Eau, 4<sup>ème</sup> édition. ed.
- Brown, T.M., Takada, H., 2017. Indicators of Marine Pollution in the North Pacific Ocean. *Arch Environ Contam Toxicol* 73, 171–175. <https://doi.org/10.1007/s00244-017-0424-7>
- Bryhn, A., Kraufvelin, P., Bergström, U., Vretborn, M., Bergström, L., 2020. A Model for Disentangling Dependencies and Impacts among Human Activities and Marine Ecosystem Services. *Environmental Management* 65, 575–586. <https://doi.org/10.1007/s00267-020-01260-1>
- Cagnon, C., Stauffert, M., Huang, L., Cravo-Laureau, C., Urriza, M.S.G., Bordenave, S., Païssé, S., Caumette, P., Duran, R., 2010. Impact of Hydrocarbons on Marine Microbial Communities, in: Ceccaldi, H.-J., Dekeyser, I., Girault, M., Stora, G. (Eds.), *Global Change: Mankind-Marine Environment Interactions*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 335–339. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-8630-3\\_59](https://doi.org/10.1007/978-90-481-8630-3_59)
- Camille, D., 2014. PRATIQUE EN MICROBIOLOGIE DE LABORATOIRE Recherche de bactérie et de levures-moisissures, Lavoisier. ed. Paris.
- Chabasse et al, 2002. 25 Biologie médicale Mars 2002 LES MOISSURES D'INTÉRÊT MÉDICAL C 142.
- Chartier, M., 1974. Les types de pollutions de l'eau. *Norois* 82, 183–193.
- Conil, P., Le Guern, C., 2013. Le littoral face aux pollutions.

- Copin-Montegut, G., 2002. Propriétés physiques de l'eau de mer. Ed. Techniques Ingénieur.
- Daccò, C., Girometta, C., Asemoloye, M.D., Carpani, G., Picco, A.M., Tosi, S., 2020. Key fungal degradation patterns, enzymes and their applications for the removal of aliphatic hydrocarbons in polluted soils: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation* 147, 104866. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104866>
- D'Amato, G., Holgate, S.T., Pawankar, R., Ledford, D.K., Cecchi, L., Al-Ahmad, M., Al-Enezi, F., Al-Muhsen, S., Ansotegui, I., Baena-Cagnani, C.E., Baker, D.J., Bayram, H., Bergmann, K.C., Boulet, L.-P., Buters, J.T.M., D'Amato, M., Dorsano, S., Douwes, J., Finlay, S.E., Garrasi, D., Gómez, M., Haahtela, T., Halwani, R., Hassani, Y., Mahboub, B., Marks, G., Michelozzi, P., Montagni, M., Nunes, C., Oh, J.J.-W., Popov, T.A., Portnoy, J., Ridolo, E., Rosário, N., Rottem, M., Sánchez-Borges, M., Sibanda, E., Sienra-Monge, J.J., Vitale, C., Annesi-Maesano, I., 2015. Meteorological conditions, climate change, new emerging factors, and asthma and related allergic disorders. A statement of the World Allergy Organization. *World Allergy Organ J* 8, 1–52. <https://doi.org/10.1186/s40413-015-0073-0>
- de Ridder, M., 1968. Recherches sur les Rotifères des eaux saumâtres de la Lorraine orientale (France). *Hydrobiologia* 32, 340–383. <https://doi.org/10.1007/BF00155398>
- Dovonou, F., Aina, M., Boukari, M., Alassane, A., 2012. Pollution physico-chimique et bactériologique d'un écosystème aquatique et ses risques écotoxicologiques: Cas du lac Nokoue au Sud Benin. *Int. J. Bio. Chem. Sci* 5, 1590–1602. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v5i4.23>
- Drapeau, A.J., Jankovic, S., Organization, W.H., 1977. Manuel de microbiologie de l'environnement. Genève: Organisation mondiale de la Santé.
- Duran, R., Cravo-Laureau, C., 2016. Role of environmental factors and microorganisms in determining the fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in the marine environment. *FEMS Microbiology Reviews* 40, 814–830. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw031>
- Fathallah, Z., Elkharrim, K., Fath-allah, R., Hbaiz, E.M., Hamid, C., Ayyach, A., Elkhadmaoui, A., Belghyti, D., 2014. Etude physico-chimique des eaux usées de l'unité industrielle papetière (CDM) a Sidi Yahia El Gharb (Maroc). *LARHYSS Journal* P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782.

- Ford, T.E., 2000. Response of marine microbial communities to anthropogenic stress. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 7, 75–89. <https://doi.org/10.1023/A:1009971414055>
- Genin, B., Chauvin, C., Ménard, F., 2003. Cours d'eau et indices biologiques: pollution, méthodes, IBGN. Educagri Editions.
- Gerday C, Glansdorff N, 2007. Physiology and Biochemistry of Extremophiles, *Physiology and Biochemistry of Extremophiles*. American Society of Microbiology. <https://doi.org/10.1128/9781555815813>
- Gerlach, S.A., 1981. *Marine Pollution*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-68182-0>
- Goeury, D., 2014. LA POLLUTION MARINE, in: Raymond, W. (Ed.), *Mers et Océans*. Atlande.
- Grégori, G., Denis, M., Duhamel, S., Van Wambeke, F., 2010. Analysis of Phosphatase Activity from Aquatic Heterotrophic Bacteria at the Single Cell Level by Flow Cytometry: Example of a Development Achieved in the Regional Flow Cytometry Platform for Microbiology (Precym) Hosted by the Oceanology Center of Marseille, in: Ceccaldi, H.-J., Dekeyser, I., Girault, M., Stora, G. (Eds.), *Global Change: Mankind-Marine Environment Interactions*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 255–258. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-8630-3\\_44](https://doi.org/10.1007/978-90-481-8630-3_44)
- Guézennec, J., 2014. *Bactéries marines et biotechnologies*. Editions Quae.
- Haque, Md.A., Jewel, Md.A.S., Sultana, Mst.P., 2019. Assessment of physicochemical and bacteriological parameters in surface water of Padma River, Bangladesh. *Appl Water Sci* 9, 10. <https://doi.org/10.1007/s13201-018-0885-5>
- Jenkins, K.M., Jensen, P.R., Fenical, W., 1998. Bioassays with Marine Microorganisms, in: Haynes, K.F., Millar, J.G. (Eds.), *Methods in Chemical Ecology Volume 2*. Springer US, Boston, MA, pp. 1–38. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5411-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5411-0_1)
- Jones, E.B.G., Suetrong, S., Sakayaroj, J., Bahkali, A.H., Abdel-Wahab, M.A., Boekhout, T., Pang, K.-L., 2015. Classification of marine Ascomycota, Basidiomycota,

- Blastocladiomycota and Chytridiomycota. *Fungal Diversity* 73, 1–72.  
<https://doi.org/10.1007/s13225-015-0339-4>
- Journal officiel de la république Algérienne N° 26, 2006. 6.
- Karim, M.S., 2015. *Prevention of Pollution of the Marine Environment from Vessels*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-10608-3>
- Khatoun, K., Malik, A., 2019. Screening of polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacterial isolates from oil refinery wastewater and detection of conjugative plasmids in polycyclic aromatic hydrocarbon tolerant and multi-metal resistant bacteria. *Heliyon* 5, e02742. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02742>
- Khusnullina, A.I., Bilanenko, E.N., Kurakov, A.V., 2018. Microscopic Fungi of White Sea Sediments. *Contemp. Probl. Ecol.* 11, 503–513.  
<https://doi.org/10.1134/S1995425518050062>
- Kumar, H.D., Häder, D.-P., 2012. *Global Aquatic and Atmospheric Environment*. Springer Science & Business Media.
- Lleò, M. del M., Signoretto, C., Canepari, P., 2005. Gram-Positive Bacteria in the Marine Environment, in: Belkin, S., Colwell, R.R. (Eds.), *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment*. Springer US, Boston, MA, pp. 307–330.  
[https://doi.org/10.1007/0-387-23709-7\\_13](https://doi.org/10.1007/0-387-23709-7_13)
- Maamar, A., 2015. Etude de la biodégradation du pétrole brut par le peuplement fongique du port d’Oran 128.
- Makhoukh, M., Sbaa, M., Berrahou, A., Van Clooster, M., 2011. Contribution a l’étude physico-chimique des eaux superficielles de l’Oued Moulouya (Maroc oriental). *LARHYSS Journal* P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782.
- Marteinsson, V.P., Groben, R., Reynisson, E., Vannier, P., 2016. Biogeography of Marine Microorganisms, in: Stal, L.J., Cretoiu, M.S. (Eds.), *The Marine Microbiome*. Springer International Publishing, Cham, pp. 187–207. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-33000-6\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33000-6_6)

- Mezejri, L., 2008. Modélisation de l'Impact de la Pollution Industrielle Hydrique dans le Gofle de Skikda (Littoral Est algérien. Badji Mokhtar Annaba University.
- Mitra, A., Zaman, S., 2016. Basics of Marine and Estuarine Ecology. Springer India, New Delhi. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2707-6>
- Mohamed ben ali, R., 2014. Evaluation de la pollution des eaux issue de la Zone industrielle de Skikda. 20.
- Moilleron, R., 2017. POLLUTIONS HYDRIQUES 59.
- Naik, M.M., Dubey, S.K. (Eds.), 2017. Marine Pollution and Microbial Remediation. Springer Singapore, Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-1044-6>
- N'Diaye, A.D., Thiam, O., Namr, K.I., 2013. Turbidite et matieres en suspension dans l'eau: application a l'évaluation des metaux contenus dans l'eau de la rive droite du fleuve senegal. LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782.
- Oren, A., 2013. Life at High Salt Concentrations, in: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. (Eds.), The Prokaryotes. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 421–440. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-30123-0\\_57](https://doi.org/10.1007/978-3-642-30123-0_57)
- Pinto, M., Langer, T.M., Hüffer, T., Hofmann, T., Herndl, G.J., 2019. The composition of bacterial communities associated with plastic biofilms differs between different polymers and stages of biofilm succession. PLoS ONE 14, e0217165. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217165>
- Prieur, D., 1995. Les bactéries des fonds marins. Biofutur 1995, 24–26. [https://doi.org/10.1016/0294-3506\(95\)80198-7](https://doi.org/10.1016/0294-3506(95)80198-7)
- Qaisar, S., Zohra, R.R., Aman, A., Qader, S.A.U., 2014. Enhanced production of cellulose degrading CMCCase by newly isolated strain of Aspergillus versicolor. Carbohydrate Polymers 104, 199–203. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.014>
- Raghukumar, C. (Ed.), 2012. Biology of Marine Fungi, Progress in Molecular and Subcellular Biology. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-23342-5>

- Rejsek, F., 2002. ANALYSE DES EAUX: Aspets réglementaires et techniques. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.
- Ribeiro, Liliane FC, De Lucas, R.C., Vitcosque, G.L., Ribeiro, Lucas F., Ward, R.J., Rubio, M.V., Damásio, A.R., Squina, F.M., Gregory, R.C., Walton, P.H., Jorge, J.A., Prade, R.A., Buckeridge, M.S., Polizeli, M. de L.T., 2014. A novel thermostable xylanase GH10 from *Malbranchea pulchella* expressed in *Aspergillus nidulans* with potential applications in biotechnology. *Biotechnology for Biofuels* 7, 115. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-115>
- Rodier, 2009. Fichier PDF L'Analyse De L'Eau - 9e edition Entierement Mise a Jour - Jean RODIER & Bernard LEGUBE & Nicole MERLET - Dunod - 2011.pdf [WWW Document]. Fichier PDF. URL <https://www.fichier-pdf.fr/2012/12/08/l-analyse-de-l-eau-9e-edition-entierement-mise-a-jour-jean-rodie/> (accessed 2.8.20).
- Sangeetha Devi, R., Ramya, R., Kannan, K., Robert Antony, A., Rajesh Kannan, V., 2019. Investigation of biodegradation potentials of high density polyethylene degrading marine bacteria isolated from the coastal regions of Tamil Nadu, India. *Mar. Pollut. Bull.* 138, 549–560. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.12.001>
- Sassoubre, L.M., Yamahara, K.M., Boehm, A.B., 2015. Temporal Stability of the Microbial Community in Sewage-Polluted Seawater Exposed to Natural Sunlight Cycles and Marine Microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.* 81, 2107–2116. <https://doi.org/10.1128/AEM.03950-14>
- Schachter, D., 1969. Ecologie des eaux saumâtres. *SIL Proceedings, 1922-2010* 17, 1052–1068. <https://doi.org/10.1080/03680770.1968.11895952>
- Secondat, M., 1952. Les variations de la température et de la concentration en oxygène dissous des eaux lacustres et des eaux courantes. Leur retentissement sur la distribution des poissons. *Bull. Fr. Piscic.* 52–59. <https://doi.org/10.1051/kmae:1952001>
- Sheavly, S.B., Register, K.M., 2007. Marine Debris & Plastics: Environmental Concerns, Sources, Impacts and Solutions. *J Polym Environ* 15, 301–305. <https://doi.org/10.1007/s10924-007-0074-3>

- Stal, L.J., Cretoiu, M.S. (Eds.), 2016a. *The Marine Microbiome*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-33000-6>
- Stal, L.J., Cretoiu, M.S. (Eds.), 2016b. *The Marine Microbiome*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-33000-6>
- Teramoto, M., Queck, S.Y., Ohnishi, K., 2013. Specialized Hydrocarbonoclastic Bacteria Prevailing in Seawater around a Port in the Strait of Malacca. *PLoS ONE* 8, e66594. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066594>
- Tolba, M.K., 1992. Marine pollution, in: *Saving Our Planet*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 33–44. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-2278-8\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-011-2278-8_4)
- Weis, J.S., 2014. *Physiological, Developmental and Behavioral Effects of Marine Pollution*. Springer Netherlands, Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-6949-6>
- Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., Toyohara, K., Miyamoto, K., Kimura, Y., Oda, K., 2016. A bacterium that degrades and assimilates poly (ethylene terephthalate). *Science* 351, 1196–1199.
- Zaafraane, S., Maatouk, K., Akrouf, F., Trabelsi, I., Drira, N., 2019. Spatio-temporal distribution of physicochemical and bacteriological parameters in the north area of Monastir bay, eastern coast of Tunisia. *Arab J Geosci* 12, 210. <https://doi.org/10.1007/s12517-019-4386-0>
- Zhang, X., Lin, H., Wang, X., Austin, B., 2018. Significance of *Vibrio* species in the marine organic carbon cycle—A review. *Sci. China Earth Sci.* 61, 1357–1368. <https://doi.org/10.1007/s11430-017-9229-x>