

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire du Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Santé, Eau et Environnement/ Microbiologie de l'environnement.

Thème

**Contribution à l'étude de la qualité bactériologique
et phytoplanctonique des eaux du Lac Tonga (Nord-est Algérien)**

Présenté par :

AIB Affef

YAKHLEF Khedidja

Devant le jury composé de :

Président : Mr. HOUHAMDI Moussa Pr. Université de Guelma

Examineur : Mr. ROUBI Abdelhakim M.C.B Université de Guelma

Encadreur : Mr. ROUABHIA Kamel M.A.A Université de Guelma

Juin 2014

Remerciements

Au terme de ce mémoire nous tenons à remercier le bon dieu qui nous donné le courage et la force pour mener à bien ce modeste travail.

Nous remercions les membres du jury qui ont bien voulu consacrer une partie de leur temps à notre thèse :

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à Mr. HOUHAMDJ Moussa, Professeur au département de Biologie à l'Université de Guelma 8 Mai 1945, pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury. Qu'il trouve ici le témoignage de nos très hautes considérations.

Nous tenons à remercier aussi Mr. ROUIBI Abdelhakim, Maître assistant au département de Biologie à l'Université de Guelma, pour avoir exprime son entière disponibilité à participer à ce jury.

Nous vifs remerciement vont à notre encadreur Mr. ROUABHIA Kamel, Maître assistant au département de Biologie à l'Université de Guelma, qui a suivie de près et de loin le déroulement et les étapes de travail.

Nous tenons à remercier aussi M.LLe. ZIDI SOROUR Maître assistant au département de Biologie à l'Université de Guelma, pour son aide précieux.

Nous remerciement vont également à tous les ingénieurs de laboratoire pour leurs gentilleses et leurs patiences.

Nous ne saurons finir sans remercier toute la promotion sortante (Microbiologie : santé, eau et environnement 2013/2014), et tous ceux qui de près ou de loin ont participé à l'élaboration directe et/ou indirecte de ce modeste travail.

Affef et Khedidja



Remerciements

En premier lieu et avant tout je tiens à remercier **DIEU** le tous puissant qui ma donné le courage, la patience et la force pour réaliser ce travail.

Nous remercions aux membres du jury :

A Melle **BOUMAZA Awatif** à l'université 8 mai 1945 Guelma trouve ici l'expression de ma profonde gratitude pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

accepté d'évaluer ce travail.

A madame **BENHALIMA**, , de nous avoir accordé la privilège de participer à ce jury.

Nous remercions d'une façon toute particulière notre directeur de mémoire Melle **AMRI Sandra** dont la disponibilité, le savoir faire et le soutien ne nous ont jamais fait défaut

Nous remercions aux techniciennes du laboratoire de microbiologie et écologie particulièrement : **Wafa, Hassiba, Houda**.

Sans oublier mes collègues et mes amies pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

Merci à tous !

Dédicace

Je dédie ce modeste travail, ton mon amour et mon respect à mon exemple dans ma vie, mon très chère père, qui m'a très bien élevé et m'a poussé à devenir ce que je suis, que Dieu le assure le paradis .

À la femme que son amour a creusé dans mes fons les plus profonds depuis ma naissance, à la femme que j'aime depuis mon enfance et que je n'aimerais jamais autant qu'elle, à ma très douce maman, la source d'amour dans notre famille, merci pour ta très bienveillance sur moi, et que Dieu te gardera pour moi ma très douce maman.

Merci « maria

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

*A ma source de tendresse, l'être la plus chère dans le monde, la femme la plus
patiente*

Ma chère mère

Mon idéal, l'être le plus généreux

Mon cher père

Pour leurs sacrifices et leurs patiences. Que dieu les grande

A mes chers frères et A mes chères sœurs

A toute la famille MEDDOUR

*En fin, je dédie ce travail à tous mes amis et mes collègues de la promotion
d'agronomie 2012/2013*

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir accordé la santé, le courage et les moyens pour suivre nos études et la volonté pour la réalisation de ce travail. Le présent mémoire n'aurait pas vu le jour sans l'aide bienveillante, la compréhension et le dévouement d'un certain nombre de personnes qui, par leur présence et leurs conseils, nous ont apporté leur soutien. Nous les en remercions et nous excusons de ne pouvoir toutes les citer. Nous exprimons notre profonde gratitude à :

A mon encadreur monsieur BOUZID Abdelhakim, je lui suis très reconnaissant pour ces orientations, ces conseils, son soutien permanent ses critiques constructives et son aide aux différentes entraves rencontrées.

A mon Co-encadreur M

me

MARNICHE Faiza pour sa disponibilité, sa bienveillance, ses conseils fort- judicieux, ses encouragements, pour sa gentillesse et ses qualités humaines et qui m'a aidé à l'identification de mes espèces.

A M

r

. SEKOUR, M. par sa présence en tant que président de jury.

A M

r

. GUEZOUL O., KOURICHI R, et ADAMOÛ A. qui ont bien voulu examiner et juger ce présent travail.

Je remercie aussi M

r

. GUEZOUL O., M

r

. SEKOUR, M., M

r

. KORICHI. R., M

r

.

EDDOUD A. et M

r

CHAABENA A. pour l'aide qu'ils m'ont donné, et toute l'équipe de la spécialité « Protection des végétaux ».

A M

r

CHEHMA A., Directeur du laboratoire de Bio Ressources sahariennes Préservation et Valorisation et à M

r

BEGGARI L. Responsable des laboratoires pédagogiques de la faculté des sciences de la nature et de la vie, et à tout le personnel du laboratoire qui ont mis à ma disposition tous les moyens nécessaires afin de réaliser une grande partie de mon travail dans une ambiance agréable.

A toutes les personnes à El Menia, notamment Mr. BENABDERRAHMANE A., EL-DHOBB B., GHENDOURS. et BENDOUI H., qui m'ont beaucoup aidé lors de prospections et lors de léchantillonnage, sans oublier mes collègues GHERBI A. et

BENGLIA Z

A Mr

CHEMMALA A., Mr

MEBARKI M., Mme ALOUI N. et Mlle

AMIROUCHE

N. pour leurs conseils et leurs orientations.

Nous tenons également à remercier le personnel de la bibliothèque de l'ITAS pour leur compréhension et leur aide.

A tous mes enseignants qui m'ont guidé et formé durant ces cinq années.

Et bien évidemment à toute ma promotion et à tous mes amis.

Enfin, j'invite tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, qu'ils trouvent ici mes vifs remerciements

Dédicaces

A la mémoire de mon père

A ma mère

A ma femme

A mes enfants

A mes frères et sœurs

A mon beau-père

A ma belle-mère

A mes beaux-frères et mes belles-sœurs

DEDICACES

Je dédie Ce modeste travail à:

- mes professeurs dans le but de leur exprimer ma reconnaissance pour les multiples conseils qu'ils m'ont prodigués afin que je mène à bien ce travail,

- à toute ma famille 'grands, moins grands et petits': Abed, Belouahem, Benazouaou et Hennouni

- à toute l'équipe collaboratrice qui a suivi avec patience, sérieux et abnégation l'élaboration de cette étude, en l'occurrence: Mrs, Gérard de Bélair, Serge D. Muller, Foudil Belouahem et Mohamed Benslama.

- et enfin, à tous les amis (es) qui de près ou de loin ont participé à la réalisation de ce travail et que nous ne pouvons, hélas, pas tous citer.

- à mon amie Fatîha et ses filles Nisserine et mouna

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je remercie tout particulièrement Messieurs les membres du Jury:

- Monsieur le Professeur Slim Benyacoub - Université d'Annaba - d'avoir accepté de présider le Jury ;

- Monsieur Gérard de Bélair, "Maître de conférences A" - Université d'Annaba -, sous l'impulsion de qui, cette thèse a été entreprise et menée à terme. Il a toujours porté un intérêt particulier à mon travail: il a encadré, et suivi de près, avec sa rigueur scientifique, toutes les étapes de cette étude. Ses conseils ainsi que sa gentillesse m'ont encouragée pour poursuivre la réalisation de ce projet de recherche; je ne m'arrêterais jamais de le remercier vivement pour sa contribution et sa patience.

- Monsieur le Professeur Djamel Alatou - Université de Constantine - d'avoir accepté d'être membre du Jury; je le remercie infiniment pour sa gentillesse et sa considération.

- Monsieur Serge D. Muller "Maître de conférences" de l'Université de Montpellier 2 d'avoir accepté d'être membre du Jury et d'avoir bien voulu m'intégrer parmi l'équipe du projet de recherche Egide-CMEP Tassili (PHC 09mdu186), et de m'avoir accueillie très chaleureusement au laboratoire de paléo-palynologie ; Je lui exprime ma reconnaissance pour l'aide précieuse qu'il a apportée notamment dans l'analyse des données.

- Monsieur Mohamed Benslama, "Maître de conférences A" - Université d'Annaba – d'avoir accepté d'être membre du Jury et pour son aide, ses multiples conseils, son dévouement et l'accueil très chaleureux qu'il m'a toujours réservé dans le laboratoire de biologie végétale et environnement. Je lui exprime toute ma gratitude.

Je tiens à remercier particulièrement Monsieur Belouahem Foudil "Attaché de recherche" I.N.R.F dont l'aide a été considérable dans la réalisation de la thèse par la traduction des articles rédigés en anglais ainsi que par sa participation dans les travaux de terrain et de rédaction et ses multiples encouragements.

Je remercie également tous les amis (es) du laboratoire de paléo-palynologie (I.S.E-M) de l'Université Montpellier 2 notamment Serge, Sophie et Inguebord pour leur accueil, leurs encouragements et leur sympathie.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à Messieurs Houili Bachir et Beghit Abbas (Conservation des forêts d'El Tarf) pour nous avoir guidés sur le terrain.

- J'exprime ma reconnaissance à toute l'équipe de la station de recherche I.N.R.F d'El Kala-Oum Theboul pour sa sollicitude. Mes remerciements sont adressés particulièrement à M. Mazouzi Fethi pour l'aide qu'il a apportée lors de nos déplacements, entre autres, les sorties sur le terrain.*
- Mes remerciements sont adressés également aux employés de l'administration de l'INRF (Alger et El Kala) qui ont participé indirectement à la réalisation de ce travail.*
- J'exprime ma gratitude à tout le personnel de la post graduation de l'Université d'Annaba.*
- Et enfin, je tiens à remercier tous les amis (es) qui m'ont aidée et encouragée dans la réalisation de cette thèse en particulier Salima et son mari à qui j'exprime toute ma gratitude*



Dédicace :

*Je dédie ce modeste travail
A ma source de tendresse, l'être la plus chère dans
Le monde, la femme la plus patiente*

Ma chère mère Farida

Mon idéal, l'être le plus généreux

Mon cher père Kamel

A mes chers frères Salah El dine, Faycel

A mes chères sœurs Karima, Nedjwa et

Nour El Houda

A toute la famille « AIB »

*En fin, je dédie ce travail à tous mes
collègues de la promotion.*

Merci « Affef »



Dédicace :

Je dédie ce modeste travail

A ma source de tendresse, l'être la plus chère dans

Le monde, la femme la plus patiente

Ma chère mère Aicha

Mon idéal, l'être le plus généreux

Mon cher père Slimane

A mes chers frères Housseem, Djaber, et

Abd ennour

A mon Mari « Kheireddine » qui m'a donné

le pouvoir de terminer mes études

A toute la famille « YAKHLEF »

En fin, je dédie ce travail à tous mes

Collègues de la promotion.

Merci « KHEDIDJA »

Table des matières

Liste d'abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	01
---------------------------	----

Chapitre I : Etude bibliographique

1- les bactéries hétérotrophes.....	03
1-1- Rôle des bactéries hétérotrophes dans les milieux lacustres	03
2-le phytoplancton	03
2-1-Aperçu sur la systématique des phytoplanctons.....	04
2-1-1- Les Cyanobactéries	04
2-1-2- Les Chlorophytes	04
2-1-3- Les Chrysophytes	04
2-1-4- Les Pyrrophytes	04
2-1-5- les Euglénophytes.....	04
2-2-Distribution et facteurs d'influence.....	05
2-3- Rôle des phytoplanctons dans le traitement des eaux usées.....	05
2-4- Rôle du phytoplancton dans l'eau	06
3- Les maladies à transmissions hydriques.....	06
3-1- Maladies d'origine bactérienne	07
3-2- Les infections par les cyanobactéries.....	07
3-3- Autres maladies à transmissions hydriques.....	08

Chapitre II : Matériel et méthodes

1- Présentation du site d'étude	09
1-1- Présentation du Parc national d'El-kala (PNEK)	09
1-1-1-Localisation.....	09
1-1-2-Caractéristiques.....	10
1-1-3-Etude climatique	10
1-1-3-1-La Température.....	10
1-1-3-2- La pluviométrie.....	11
1-1-4- Expression synthétique du climat.....	11
1-1-4-1-Climagramme d'Emberger	11

1-1-4-2-Diagramme pluvio -thermique de Bagnouls et Gaussen.....	13
1-2- Présentation du Lac Tonga.....	13
1-2-1- Caractéristiques écologiques.....	14
1-2-2-Flore remarquable.....	14
1-2-3-Faune remarquable.....	15
1-2-3-1-Les mammifères.....	15
1-2-3-2-Les oiseaux d'eau.....	15
2- Choix des stations de prélèvement.....	16
3-L'échantillonnage.....	17
3-1-Matériel de prélèvement.....	17
3-2- Méthode de prélèvement.....	17
3-3- Enregistrement et étiquetage des échantillons.....	18
3-4-Transport et conservation des échantillons avant l'analyse.....	18
4- Les analyses physicochimiques mesurées <i>in situ</i>	19
4-1-La température.....	19
4-2- Potentiel hydrogène pH.....	19
4-3- La conductivité électrique.....	19
4-4- L'oxygène dissous.....	20
5-Les analyses bactériologiques.....	21
5-1- Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables.....	21
5-2- Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et identification d' <i>E.coli</i>	24
5-3- Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.....	28
5-4-Recherche et dénombrement des spores des bactéries Anaérobies sulfito-réducteur.....	31
5-5-Recherche des germes pathogènes.....	33
5-5-1-Recherche des <i>Staphylocoques</i>	33
5-5-2- Recherche des <i>Salmonella</i>	35
5-5-3-Recherche de <i>Shigella</i>	37
5-5-4-Recherche de <i>Pseudomonas</i>	39
5-5-5-Recherche des <i>Vibrio cholériques</i>	41
6-L'identification.....	43
6-1-Examen macroscopique des caractères cultureux.....	43
6-2-Examen microscopique.....	43
6-3-Examen liée aux caractères biochimiques.....	44
7-L'analyse phytoplanctonique.....	52
7-1- Analyse qualitative.....	52
7-1-1- Identification des espèces.....	52
7-1-2-Diversité globale.....	53
7-1-2-1-Richesse spécifique.....	53
7-1-2-2-Indices de diversité.....	53
7-2-Analyse quantitative.....	53
7-2-1- Abondance.....	53

7-2-2- Estimation de la biomasse phytoplanctonique.....	54
---	----

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Résultats des analyses physicochimiques mesurés <i>in situ</i>	55
1-1-La température.....	55
1-2- Le pH.....	55
1-3- La conductivité électrique.....	56
1-4-L'oxygène dissous	57
2- Résultats des analyses bactériologiques.....	58
2-1- Recherches et dénombrement des germes totaux.....	58
2-2-Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux.....	59
2-3- Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	61
2-4- Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices.....	62
2-5-Identification des colonies bactériennes.....	63
2-5-1-Caractères morphologiques et coloration de Gram.....	63
2-5-2-Résultats de l'identification biochimique.....	66
3-Résultats du phytoplancton.....	69
3-1-Analyse qualitative.....	69
3-1-1-Composition spécifiques et structure des communautés phytoplanctonique.....	69
3-1-2-Richesse spécifique.....	70
3-1-3-Richesse spécifique des groupes phytoplanctonique.....	70
3-2-Analyse quantitative.....	71
3-2-1-Abondance globale de phytoplancton.....	71
3-2-2-Abondance des groupes phytoplanctonique.....	72
3-2-3-Diversité des différentes classes.....	72
3-2-4-La teneur de chlorophylle <i>a</i>	73

Conclusion	74
-------------------------	----

Résumé

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

- : Caractère négatif	NaCl : Chlore de sodium
% : Pourcent	NPP : Nombre le plus probable
+ : Caractère positif	O₂ : Oxygène
± : Plus ou moins	ODC : Ornithine Décarboxylase
° : Degré	ONPG :Ortho-Nitrophényle-B-D-Galactosidase
°C : Degré Celsius	P : précipitations moyennes annuelles
µs : Micro-Siemens	pH : Potentielle Hydrogène
ADE : Algérienne Des Eaux	Q₂ : Quotient pluviométrique d'Emberger
ADH : Arginine dihydrolase	RM : Rouge de méthyle
ASR : Anaérobies sulfitoréducteurs	Roth : Bouillon à l'azide de sodium
BCPL : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol	S : Station
BGN : Bacilles Gram Négatifs	S /C : Simple Concentration
CF : Coliforme fécaux	SF : Streptocoque Fécaux
CIT : Citrate	SFB : Bouillon Sélénite Cystéine
cm : Centimètre	sp : Espèce
Cond : conductivité	SS : <i>Salmonella-Shigella</i>
CT : Coliforme totaux	T : Température
D /C : Double concentration	Tab : Tableau
E.coli : <i>Escherichia coli</i>	TDA : Tryptophane décarboxylase
EPA : Eau Peptonée Alcaline	TDS : Taux de Solides Dissous
Eva Litsky : Bouillon à l'éthyle violet et aide de sodium	TGEA : Tryptone-Glucose-Extrait de levure-Agar
Fig : Figure.	TSI : Triple Sagar Iron
g : Gramme	URE : Urée
g /l : Gramme par litre	VF : Viande foie
GEL :Gélatinase	VP : VogesProskawer
GLU : Glucose	
GN : Gélose Nutritive	
GNAB : Gélose Nutritive Alcaline et biliée	
GT : Germes totaux	
h : Heure	
H₂O₂ : Eau oxygénée	
H₂S : Hydrogènesulfuré	
ha : Hectare	
IND : Indole.	
Km² : Kilomètre cube	
LDC : Lysine déshydrogénase.	
µg/l : Microgramme par litre	
µl : Micro litre	
ml : Millilitre	
mn : Minute	

Liste des figures

N° de figure	Titre des figures	N° de page
1	Localisation du Lac Tonga dans le Parc National d'El-Kala.	09
2	Graphe d'Emberger pour la région d'El-Kala.	12
3	Diagramme pluvio-thermique de la région d'El-Kala.	13
4	Localisation des points de prélèvement.	16
5	Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables	23
6	Protocole de recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et <i>E.coli</i> .	27
7	Protocole de recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.	30
8	Protocole de recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies.	32
9	Protocole de recherche des Staphylococcus.	34
10	Protocole de recherche et identification de Salmonella.	36
11	Protocole de recherche et identification de Shigella.	38
12	Protocole de recherche de Pseudomonas.	40
13	Protocole de recherche et identification de Vibrio	42
14	Variations de la température de l'eau de Lac Tonga	55
15	Variations spatio-temporelles du pH de l'eau de Lac Tonga	56
16	Variations de la conductivité électrique de l'eau de lac Tonga	56
17	Variations de teneur de l'oxygène dissout de l'eau de lac Tonga	57
18	Evaluations du nombre des germes revivifiables à 22°C et à 37°C de l'eau de Lac Tonga.	58
19	Dénombrement des coliformes totaux dans l'eau de lac Tonga(S2).	59
20	Estimation des coliformes totaux dans l'eau de lac Tonga.	59
21	Dénombrement des coliformes fécaux dans l'eau de lac Tonga	60
22	Estimation des coliformes fécaux dans l'eau de lac Tonga.	60
23	Dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau de lac Tonga.	61
24	Estimation des Streptocoques fécaux dans l'eau de lac Tonga	61

25	Aspect macroscopique des colonies sur le milieu chapman.	64
26	Aspect macroscopique des colonies sur le milieu SS.	64
27	Aspect macroscopique des colonies sur le milieu Hectoen.	64
28	Aspect macroscopique des colonies sur le milieu Mac conky.	64
29	Aspect macroscopique des colonies sur les milieux : A- Cétrimide B- GNAB et C- GN.	65
30	Détermination des caractères morphologiques	65
31	Profil biochimique de la souche <i>Citrobacter braakii</i>	66
32	Profil biochimique de la souche <i>Enterobacter cloacae</i>	66
33	Profil biochimique de la souche <i>Salmonella orizonae</i>	66
34	Profil biochimique de la souche <i>Klebsiella omithinolytica</i> .	67
35	Profil biochimique de la souche. <i>Aeromonas hydrophila</i>	67
36	Profil biochimique de la souche <i>Serratia odorifera</i> .	67
37	Profil biochimique de la souche <i>Enterobacter sakazakii</i> .	67
38	Profil biochimique de la souche <i>Vibrio vulnificus</i> .	67
39	Evaluations de nombre des espèces et des Genre dans les trois stations.	70
40	Evolution de la richesse spécifique des groupes de phytoplancton	71
41	Variations de l'abondance globale (ind /L x10 ⁶) du phytoplancton de lac Tonga pendant les deux moins (Mars et Avril).	71
42	Evaluation spatio-temporelle de l'abondance des espèces phytoplanctonique.	72
43	Evaluation de l'indice de diversité de Shannon aux Stations S1, S2, S3.	73
44	variation de la teneur moyenne en chlorophylle a dans les 3 stations (Mars et Avril).	73

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre du tableau	N° de page
1	Principales bactéries responsables des infections d'origine hydrique	07
2	Principales toxines responsables des infections d'origine hydrique	08
3	Autres maladies à transmissions hydriques.	08
4	Températures moyennes mensuelles de la région d'El-Kala pour la période de 1996 à 2007 (station météorologique d'El-Kala).	10
5	Présentation des sites et période de prélèvement.	16
6	Caractères d'identification biochimique de shigella	37
7	lecture et interprétation des tests biochimiques du milieu TSI	47
8	Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR).	62
9	Aspect macroscopique, microscopique et identification des colonies bactériennes isolées dans l'eau de lac Tonga.	63
10	Résultats de la galerie API systèmes.	66
11	Résultats de la galerie biochimique classique.	68
12	Classification des espèces phytoplanctonique de lac Tonga.	69
13	Table de Mac Grady	Annexe
14	Tableau de lecture de l'APi20E	Annexe
15	Table de lecture pour l'API 20 NE	Annexe
16	Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.	Annexe
17	Classifications des eaux d'après leur pH	Annexe
18	Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique	Annexe
19	Qualité des eaux en fonction de l'oxygène dissous	Annexe
20	Présence, absence des espèces dans les trois stations	Annexe



INTRODUCTION

Introduction

L'eau constitue un élément essentiel dans la vie et dans l'activité humaine. C'est une composante majeure du monde minéral et organique. Elle participe à toutes les activités quotidiennes notamment, domestiques, industrielles et agricoles ce qui la rend un élément récepteur exposé à tous genres de pollution. Elle est aussi considérée comme un transporteur potentiel de nombreuses maladies [Gheraba, 2012].

La position géographique de l'Algérie, sa configuration physique et la diversité de son climat lui confèrent une importante richesse de zones humides qui jouent un rôle important dans les processus vitaux, entretenant des cycles hydriques et accueillant poissons et oiseaux migrateurs.

Sa configuration physique s'est traduite globalement par une zonation latitudinale caractérisée par l'existence de plusieurs types de climats sur lesquels l'influence méditerranéenne s'atténue au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la mer. Cette diversité de climat a engendré une grande diversité d'écosystèmes de zones humides.

Tous les écosystèmes sont caractérisés par un réseau trophique qui leur est propre. Celui-ci présente une structure en plusieurs niveaux unis par des relations alimentaires et régissant les flux d'énergie et de matière.

Le plancton végétal est le premier maillon biologique des chaînes alimentaires dans les écosystèmes aquatiques, la production primaire est principalement assurée par ce maillon. Ces organismes photosynthétiques utilisent l'énergie lumineuse pénétrant dans l'eau pour effectuer la photosynthèse. Leur croissance dépend de la disponibilité en nutriments et de la présence de toxiques, de la température et de la lumière.

Dans certaines conditions, avec des apports élevés de nutriments, la croissance excessive de ce phytoplancton conduit à une situation d'eutrophisation [Ariane, 2009].

L'eutrophisation des Lac est la conséquence d'un apport excessif en phosphore, généralement lié aux activités urbaines, agricoles et industrielles. Il en résulte un développement important de la biomasse algale et principalement du phytoplancton.

Celle-ci sédimente au fond de l'eau où elle se décompose en consommant une grande quantité d'oxygène dissous [Ariane, 2009].

L'eau qu'elle soit son origine : eau souterraine ou eau superficielle peut comporter des risques sur la santé lors qu'elle est souillée par des matières qui peuvent la rendre nocive [Hadri, 2011].

La contamination des eaux de surface par des agents pathogènes est un problème de pollution qui remonte très loin dans le temps. Elle est à l'origine de différentes maladies à transmissions hydriques qui ont été responsables de vastes épidémies de dysenterie, fièvre typhoïde, choléra et autre, Aujourd'hui, ces maladies sont à l'origine d'un taux de mortalité très élevé des populations [01].

Les objectifs de ce travail sont de :

1. Caractériser l'environnement physico-chimique des eaux du lac Tonga.
2. Déterminer la qualité bactériologique.
3. Faire un inventaire du phytoplancton du lac Tonga au cours de la période d'étude.

Ce manuscrit est divisé en trois chapitres.

- Le premier chapitre, une étude bibliographique présente une généralité sur les bactéries hétérotrophes et les phytoplanctons, et sur les principales infections d'origines hydriques ;
- Le deuxième chapitre, présente une étude expérimentale consacrée aux présentations du matériel et méthodologie suivie pour la réalisation des analyses physicochimiques et bactériologiques effectuées et phytoplanctonique ;
- Le troisième chapitre, mentionne sous forme de tableaux et de graphes les différents résultats obtenus au cours de notre étude pratique, avec une discussion et une conclusion clôturant le mémoire.



CHAPITRE I

I-Etude bibliographique

1- Les bactéries hétérotrophes :

La communauté bactérienne hétérotrophe dans les milieux aquatiques est de moins en moins considérée comme une entité homogène, mais plutôt comme un ensemble de groupes fonctionnels (bactéries chimio-lithotrophes, chimio-organotrophes ...) et/ou taxonomiques. Un groupe fonctionnel est un ensemble de bactéries utilisant les mêmes sources d'énergie, d'électrons et de carbone, ainsi que les mêmes accepteurs d'électrons, indépendamment de leur taxonomie [Amblard *et al.*, 1998] .

1-1-Rôle des bactéries hétérotrophes dans les milieux lacustres :

Les bactéries utilisent rapidement le carbone organique dissous de faible poids moléculaire. Une attention particulière a été portée sur la composante qualitative de cette fraction dissoute, soit par des techniques de chimie analytique, soit par des bio-essais. Ainsi, il s'avère qu'il existe une grande variabilité spatiale et temporelle de la qualité et de la quantité de la matière organique dissoute, et cela a permis de comprendre, notamment l'accumulation de carbone organique dissous biodégradable observée dans certains milieux aquatiques [Kirchman *et al.*, 1991].

2- Le phytoplancton :

Le phytoplancton est composé d'organismes végétaux (unicellulaires, filamenteux ou coloniaux) microscopiques en suspension dans la colonne d'eau, caractérisés par la présence de pigments chlorophylliens dont majoritairement la chlorophylle a. Ces micro -organismes ont qualifiés de thallophytes, c'est à dire dépourvus de tige, racine et de vaisseaux conducteurs. Ils sont localisés dans les couches superficielles éclairées des étendues d'eau. En effet leur métabolisme est dominé par le mode de vie autotrophe basé sur la photosynthèse (besoin de lumière) qui est la source principale voire unique de leur énergie et permettant la constitution des molécules pour les cellules [Dauta & Feuillade, 1995].

Toutefois, certains groupes du phytoplancton comme les dinoflagellés (*Proto-peridinium sp* et *Gymnodinium sp...*) sont hétérotrophes et utilisent des substances organiques à la base de leur métabolisme [De Reviere, 2003].

2-1-Aperçu sur la systématique des phytoplanctons :

2-1-1-Les Cyanobactéries :

Les cyanobactéries, organismes procaryotes, regroupent plus de 110 genres et environ 1000 espèces dulçaquicoles. La plupart des cyanobactéries sphériques appartiennent à la famille des Chroococcacées et les filamenteuses aux familles des Nostocacées et Oscillatoriacées [Bourrelly, 1985]. Les cellules appartenant à cette classe se caractérisent par l'absence de noyau, de plaste et de reproduction sexuée. Certaines cyanobactéries possèdent des vacuoles gazeuses qui leur permettent de réguler leur position dans la colonne d'eau et de se maintenir à une profondeur où la température, la lumière et les éléments nutritifs sont favorables à leur développement.

2-1-2- Les Chlorophytes:

Les Chlorophytes ont des plastes d'un beau vert franc et mettent de l'amidon en réserve. Cet amidon est logé dans les plastes (amidon intraplastidial). Il se colore en bleu-noirâtre, et souvent même, en noir par la solution iodo-iodurée. Les cellules nageuses possèdent habituellement deux fouets de même taille, rarement quatre ou plus. Cet embranchement comporte quatre classes : Les Euchlorophycées, les Ulothricophycées, les Zygothricées et les Charophycées [Bourrelly, 1972].

2-1-3- Les Chrysophytes:

Les Chrysophycées sont caractérisées par des chromatophores bruns, jaunes ou vert-jaunâtre. Ces algues ne possèdent jamais d'amidon, mais un polysaccharide ne se colorant pas à la solution iodo-iodurée. On en distingue 3 classes: les Chrysophycées, les Xanthophycées et les Bacillariophycées ou Diatomées [Bourrelly, 1972].

2-1-4- Les Pyrrophytes:

Elles ont des plastes bruns, moins souvent rouges ou bleu-vert et mettent de l'amidon en réserve. Mais cet amidon n'est pas contenu dans des plastes ; il est extra-plastidial [Bourrelly, 1970].

2-1-5-Les Euglénophytes :

Ces algues sont unicellulaires flagellés rarement coloniales. Les euglénophytes contiennent de la chlorophylle a et b et leurs réserves glucidiques sont constituées par le paramylon stocké dans le cytoplasme. Des gouttelettes lipidiques constituent des réserves

supplémentaires. La classe des Euglénophycées est unique pour cet embranchement. Ce sont des micro-organismes dulçaquicoles (en particulier dans des milieux riches en matière organique), marins ou d'eaux saumâtres. La multiplication s'effectue par division cellulaire [De Reviere, 2003].

2-2-Distribution et facteurs d'influence :

La distribution spécifique des phytoplanctons provient du fait qu'elles présentent des différences à plusieurs niveaux : exigences en nutriments, taux d'assimilation des nutriments, taux de croissance, températures optimales, etc. [Dekayir, 2007]. Ainsi, les variations de la composition des populations algales dans des bassins de stabilisation dépendent des changements climatiques, notamment la durée d'ensoleillement et la température, de la charge en substances minérales et organiques et du temps de rétention de la masse d'eau dans les bassins. De nombreux travaux montrent que la prédation et la toxicité de certaines substances s'ajoutent aux conditions climatiques et nutritionnelles pour influencer les peuplements algaux des bassins de stabilisation. Ces deux facteurs sont souvent responsables d'un déclin marqué des populations algales, ce qui perturbe le déroulement normal de l'autoépuration

2-3- Rôle des phytoplanctons dans le traitement des eaux usées:

Les algues microscopiques jouent des rôles clés dans le traitement biologique des eaux usées par lagunage

- 1- Elles opèrent comme pourvoyeur d'oxygène par le biais du processus photosynthétique. Ainsi, elles favorisent l'oxydation de la matière organique en s'associant sous forme symbiotique aux bactéries [Humenik & Hanna, 1971]. Elles peuvent même contribuer directement à l'élimination de certains dérivés organiques [Abeliovich & Weisman, 1978; Pearson *et al.*, 1987].
- 2- Elles assurent l'élimination, en partie, des sels nutritifs excédentaires dans les eaux résiduaires [Kalisz, 1973; Pouliot & Delanoue, 1985; Ergashev & Tajiev, 1986].
- 3- Elles agissent comme bioabsorbants contribuant à l'élimination des métaux lourds et autres produits toxiques véhiculés par ces eaux [Becker, 1983].
- 4- Par leur activité biologique, elles influencent négativement les conditions de vie de certaines bactéries pathogènes, conduisant ainsi à leur réduction en nombre et même leur disparition [Parhad & Rao, 1974; Pearson *et al.*, 1987].

2-4-Rôle du phytoplancton dans l'eau :

Si les organismes phytoplanctonique représentent seulement 1% de la biomasse des organismes photosynthétiques sur Terre, ils assurent 45% de la production primaire [Chisholm 1995; Behrenfeld *et al.*, 2001]. Ils sont ainsi à la base de la chaîne trophique pélagique [Azam et Malfatti 2007] et sont donc responsables d'une part essentielle de la production primaire dans les milieux aquatiques.

La prolifération du phytoplancton a un impact direct sur les écosystèmes aquatiques entraînant des modifications de la diversité et de la dynamique des populations. En outre, certaines espèces, dont les cyanobactéries, sont susceptibles de synthétiser des toxines à l'origine d'intoxications plus ou moins graves, représentant des risques important pour la santé humaine et animale [Chorus et Bartram 1999]. Les usages de l'eau peuvent ainsi être limités par ces contaminations.

Les eaux douces et particulièrement les eaux de surface, qui représentent une ressource vitale pour l'homme, sont menacées par des pollutions diverses, d'origine anthropique. Le phytoplancton réagit à ces altérations et peut être considéré comme un indicateur de la dégradation de la qualité des eaux continentales, proposé par la Directive Cadre sur l'Eau(DCE) comme élément de qualité biologique.

3- Les maladies à transmissions hydriques :

La pollution microbiologique des eaux de surface par des agents pathogènes est un problème qui remonte très loin dans le temps. Au cours de 19^{ième} siècle, les maladies d'origine hydrique ont été responsables de vastes épidémies de dysenterie, fièvre typhoïde, choléra, entre autres, liés d'une part à la consommation de la faune et à la baignade [Hamid Bou Saab, 2007].

La mauvaise qualité microbiologique de l'eau peut être induite par des activités anthropiques ou par des phénomènes naturels. Dans la plupart des cas, la pollution s'entend comme un dépassement aux normes, définies en fonction des usages de l'eau. Elle perturbe les conditions de vie et l'équilibre du milieu aquatique et compromet les utilisations de l'eau.

3-1-Maladies d'origine bactérienne :

Tableau 01 : Principales bactéries responsables des infections d'origine hydrique [Rejsek F. (2002)].

Bactéries	Maladies induites
<i>Escherichia coli</i> entéro-toxiques et entéro-invasifs	Gastro-entérite et autres maladies.
<i>Salmonella typhi</i> et <i>Salmonella paratyphi</i> A, B, et C.	Fièvres typhoïde et paratyphoïdes.
<i>Vibrio cholerae</i> ,	Choléra-gastro-entérite, infections cutanées.
<i>Aeromonas</i>	Gastro-entérite syndrome cholériforme.
<i>Shigella dysenteriae</i>	Les dysenteries bacillaires.
<i>Campylobacter jejuni</i> ou <i>Campylobacter coli</i>	Gastro-entérite.
<i>Legionella pneumophilla</i>	Pneumopathie, fièvre.
<i>Leptospira</i>	Leptospirose entéro-hémorragique.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infection cutanée, pus.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infection cutanée.

3-2-Les infections par les cyanobactéries :

Les toxines cyanobactériennes sont des poisons naturels qui sont emmagasinés dans certaines cyanobactéries. Ces toxines sont libérées dans l'eau lors de la mort des cyanobactéries.

- Lors de l'ingestion de l'eau : maux de ventre, nausées, diarrhées, vomissement.

Tableau 02 : Principales toxines responsables des infections d'origine hydrique [06].

Types de Toxines	Maladies
Les dermatotoxines	Peuvent causer des irritations et créer des problèmes d'allergies. En contact avec la peau, ces toxines peuvent provoquer des sensations, de brûlures ainsi que des démangeaisons rougeâtres et boursouflées.
Les hépatotoxines	Favoriseraient l'apparition de troubles chroniques du foie et du tube digestif.
Les neurotoxines	Affectent le fonctionnement du système nerveux. En stimulant constamment les muscles, elles peuvent provoquer des crampes, une grande fatigue et même une paralysie.

3-3- Autres maladies à transmissions hydriques :**Tableau 03** : Autres maladies à transmissions hydriques [Hidouci, 2009].

Type de maladie	Maladie	Agent causal
Virale	Poliomyélite Méningite Myocardite Hépatite infectieuse Gastro-entérite	Virus de la poliomyélite. Virus de coxsackie A Virus de coxsackie Virus d'hépatite A, E Rotavirus, Calcivirus, Virus de Norwalk, Astrovirus, Coronavirus et Coronavirus like.
Parasitaire	Amibiase Paludisme Gastro-entérite	Amibe. Plasmodium. <i>Giardia lamblia</i> , <i>Giardia intestinalis</i> , Plasmodium.
Fongique	Candidose	<i>Candida albicans</i> .



CHAPITRE II

II- Matériel et méthodes

1-Présentation du site d'étude :

1-1- Présentation du Parc national d'El-kala (PNEK) :

1-1-1-Localisation :

Le Parc National d'El-Kala est situé dans la wilaya d'El Tarf à l'Est Algérien et s'étend sur une superficie 80 000 ha. Créé en 1983 ; il constitue un laboratoire naturel pour de nombreux chercheurs. Sa richesse biologique et paysagère lui a valu d'être érigé en réserve de biosphère par l'UNESCO [Adjami 2006].

Le Parc National d'El-Kala présente un ensemble lacustre unique en Algérie et en Afrique du Nord. Ces lacs sont représentés par : le Lac Tonga et Lac Oubeira (classés comme zones d'importance internationale (RAMSAR), le Lac El-Mellah, le Lac Bleu, le Lac Noir et le Marais de Bourdhim. Il est limité : Au Nord par la Méditerranée, Au Sud par les monts de la medjedra, a l'est par la frontière algéro-tunisienne, et a l'Ouest par les plaines d'Annaba.

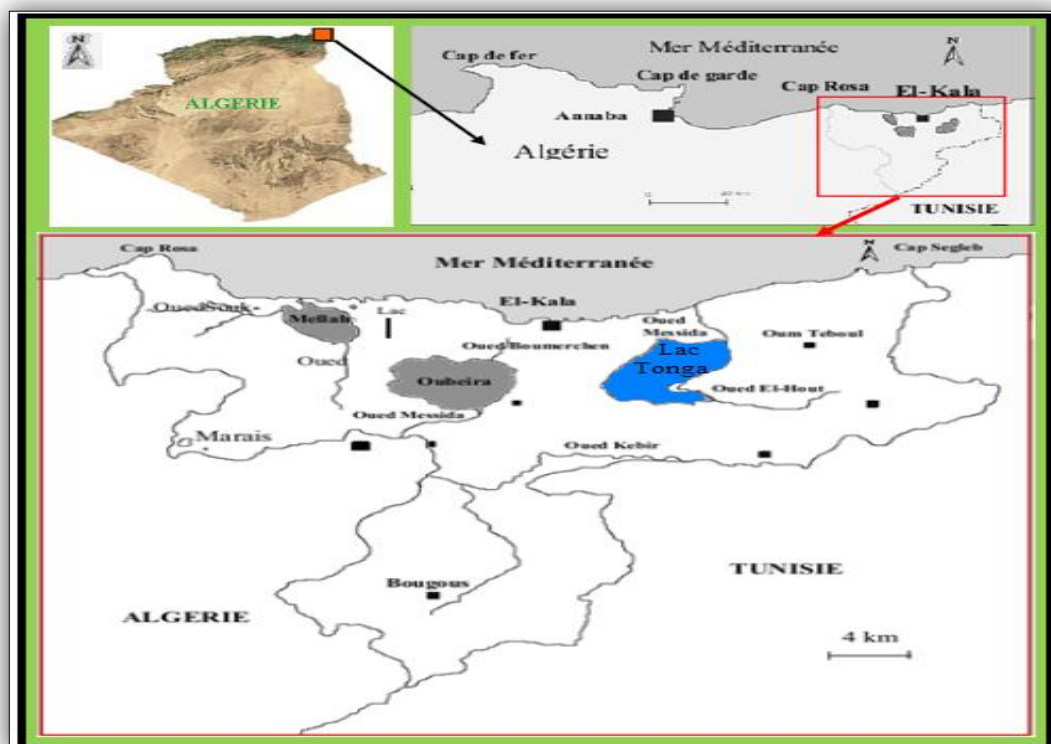


Figure 01: Localisation du Lac Tonga dans le Parc National d'El-Kala
[LANDSCAP AMENAGEMENT, 1998].

1-1-2-Caractéristiques :

La région d'El-Kala est considérée comme la région la plus humide d'Algérie du fait de sa grande diversité et sa richesse biologique. Sa richesse tant floristique que faunistique à fait l'objet de plusieurs études depuis le siècle dernier [Anonyme ; 1996].

1-1-3-Etude climatique :

Le climat est certainement un facteur du milieu très important. Il a une influence directe sur la faune et la flore. Un climat méditerranéen règne sur la région caractérisé par une pluviométrie abondant la saison humide et les mois froids et par une sécheresse pendant l'été [Ozenda, 1982].

1-1-3-1-La Température :

Nous consignons dans le tableau 4 les températures moyennes mensuelles de la région d'El-kala pour la période de 1996 à 2007 (station météorologique d'El-Kala) [Ait Mouloud, 2011].

Tableau 04: Températures moyennes mensuelles de la région d'El-Kala pour la période de 1996 à 2007 (station météorologique d'El-Kala).

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
TM	16.16	16.32	17.81	20.28	23.47	25.67	30.10	31.65	26.04	25.05	19.44	17.65
Tm	9.15	9.56	11.15	12.51	15.96	19.41	21.83	23.43	21.17	17.53	13.28	10.88
(TM+Tm) /2	12.65	12.94	14.48	16.39	19.71	22.54	25.96	27.54	23.60	21.29	16.36	14.26

TM : moyenne mensuelle des températures maximales.

Tm : moyenne mensuelle des températures minimales.

(TM+Tm) /2 : Température moyenne mensuelle.

L'analyse du tableau 4 montres que les températures moyennes mensuelles atteignent un maximum au mois d'août avec 27,54° C, puis diminuent progressivement pour arriver à un minimum de 12 ,65° C au mois de janvier.

Les températures moyennes maximales sont enregistrées en été (août = 31,65° C) et températures moyennes minimales en hiver (janvier = 9,15° C).

1-1-3-2- La pluviométrie :

La région de l'extrême Nord-est de l'Algérie compte parmi les plus abondamment arrosées 1300 mm/an [BNEF, 1985].

Une des caractéristiques de la pluviosité dans la région réside est sa grande variabilité annuelle, saisonnière et mensuelle, c'est une caractéristique du climat méditerranéen avec une concentration de la totalité des précipitations sur quelques mois de l'année, de novembre à avril au cours desquels, les précipitations gagnent sur l'évaporation. Une saison sèche de mai à octobre, où les précipitations sont déficitaires par rapport à l'évaporation et le minimum annuel s'observe toujours en juillet-août [Raachi, 2007].

1-1-4- Expression synthétique du climat :**1-1-4-1-Climagramme d'Emberger :**

En 1955, Emberger a classé les climats méditerranés en faisant intervenir deux facteurs essentiels : les précipitations et la température.

$$Q_2 = P1000 / [M+m]^2 [M-m]$$

Q₂ : Quotient pluviométrique.

P : Précipitation moyennes annuelles.

M : T° max du mois le plus chaud (K°).

m : Température des minima du mois le plus froid (K°).

Le quotient pluviométrique de la région d'El-Kala $Q_2=130.71$.

La Numidie est localisée dans l'étage biochimique sub-humide à hiver chaude (Fig02).

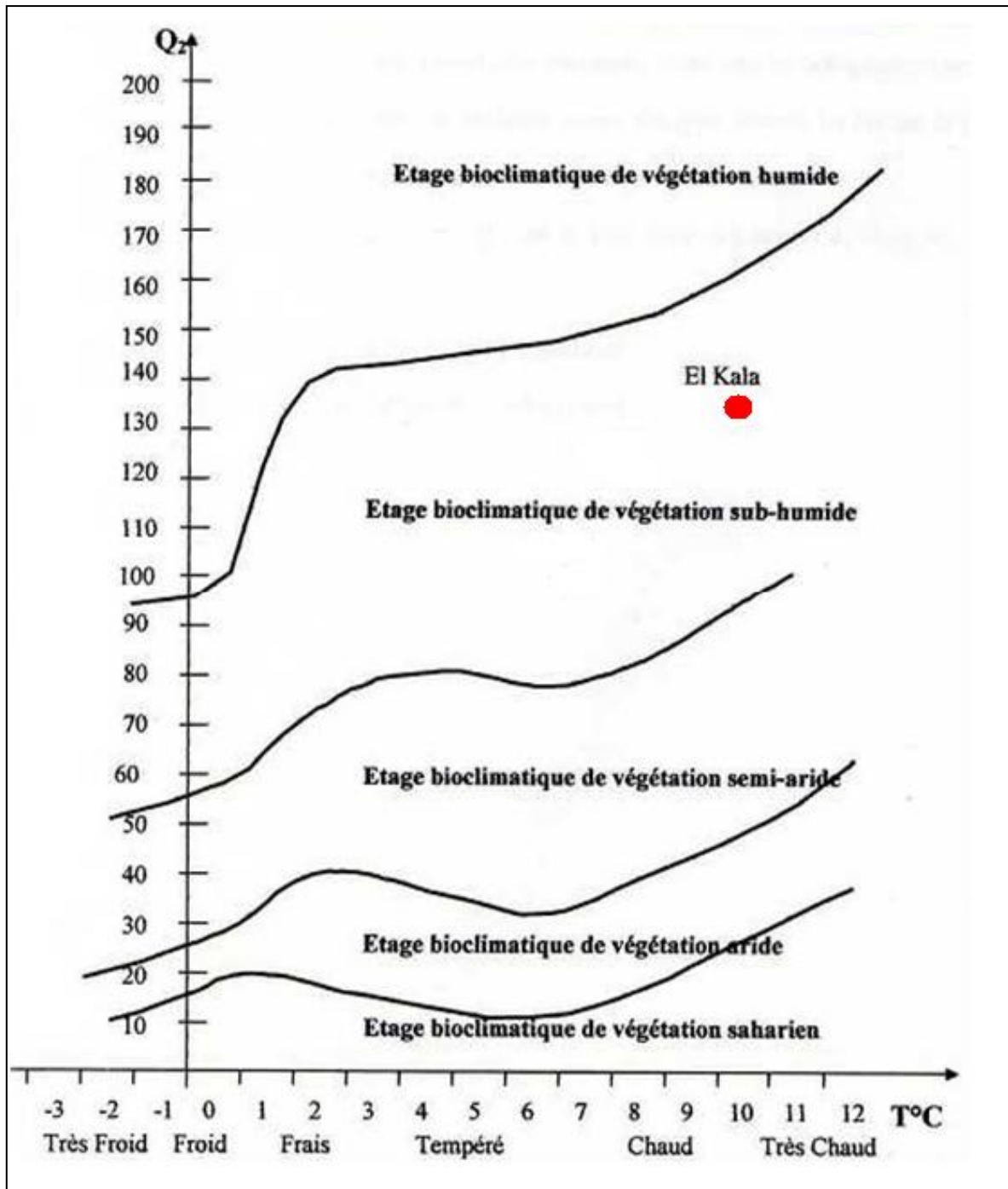


Figure 02: Graphe d'Emberger pour la région d'El-Kala [Touati, 2008].

1-1-4-2-Diagramme pluvio-thermique de Bagnouls et Gausсен :

Pour l'élaboration du diagramme pluvio-thermique de Bagous et Gausсен (1957) nous avons tenu comptes des données climatiques bien précises qui sont les précipitations annuelles et les températures moyennes étalées sur plusieurs années des deux stations. Le but est de déterminer la période sèche et la période humide. (Fig.3)

Les courbes pluvio-thermiques ainsi établies, nous ont permis de visualiser deux saisons distinctes : l'une sèche de Mai à Septembre et l'autre d'Octobre à Avril [Touati, 2008].

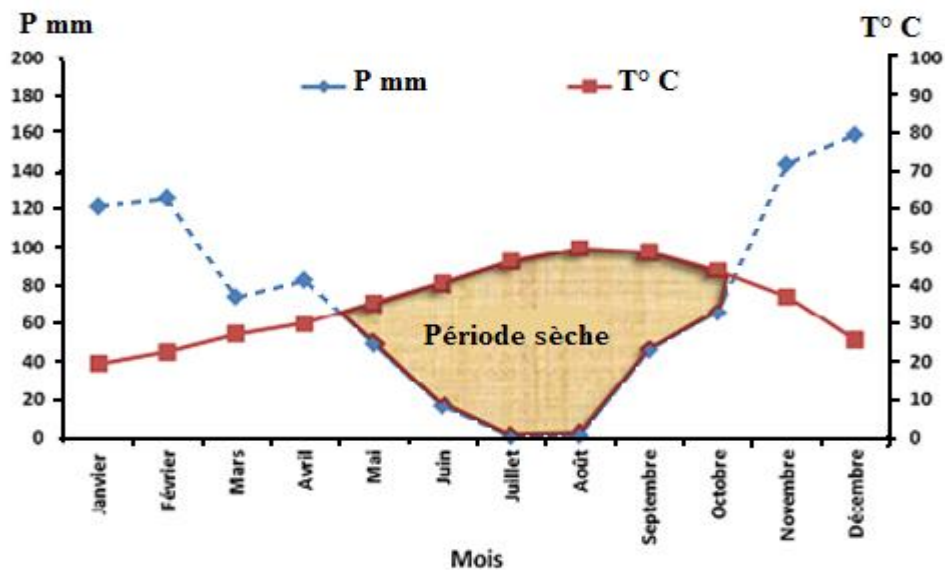


Figure 03: Diagramme pluvio-thermique de la région d'El-Kala.

1-2- Présentation du Lac Tonga :

Le Lac Tonga est un étang (moins 6 m de profondeur) d'eau douce communiquant avec la mer par le chenal artificiel de la Messida, localisée entre 36°53'N et 08°31'E à 5 Km au sud-est de ville d'EL-Kala et 65Km à l'sud-est de la ville d'Annaba.

De forme allongée, on peut définir des axes d'allongement remarquables ;

- Sa longueur selon un axe Nord-est-Sud-ouest, est de 7.1 km.
- La largeur selon un axe Est-Ouest passant par le centre est de 3.5 Km en moyenne.
- Le périmètre est égal à 22 Km environ.
- Le bassin versant du Tonga de 150 km².

La superficie en situation de pleine eau est égale à 2500 ha environ. Elle est sensiblement réduite en été du fait de l'évaporation. Les zones exondées sont localisées à l'ouest et à l'ensemble de la partie sud du lac [Bouchaar, 2006].

Le Lac Tonga est alimenté d'une part par de nombreux affluents (petits ravins) secs en été tout au long des rives Ouest et sud et d'autre part par à l'Est et au Nord Est par des oueds et de 02 sous bassins versants, celui d'oued El-Hout au sud et D'oued El-Eurg au Nord ; l'exutoire du Tonga étant de la Messida [Mebarki, 2006].

Il se caractérise par la présence d'îlots flottants colonisés par des sols, de grandes plages d'eau libres occupées partiellement par le nénuphar blanc et une importante couverture végétale en forme de mosaïque végétation abondante recouvert 90% de la surface du Lac.

Le lac Tonga c'est la plus importante zone de nidification d'Afrique du nord, c'est une zone humide d'importance internationale inscrite sur le site Ramsar et une réserve intégrale du Parc national d'El-Kala [Bouchaar, 2006].

1-2-1- Caractéristiques écologiques :

C'est un site d'hivernage pour des dizaines de milliers d'oiseaux d'eau (Canards, Oies, Rallidés, Ardéidés, Limicoles et autre), un site de nidification d'un nombre important d'espèces aviaires et une zone de mue et d'escale. Ces fonctions sont assurées par la grande diversité des milieux au sein même du lac et la présence de grandes surfaces d'eau libre.

Le lac Tonga est un site qui abrite une faune très importante (anguille, reptiles et amphibiens, insectes au mois pendant leurs stades larvaires).

1-2-2-Flore remarquable :

Le plan d'eau du lac est occupé par une végétation aquatique riche et diversifiée, et qui très variable selon les saisons et la situation géographique. Dans la plupart des cas, ces types de végétation ne se rencontrent pas isolés mais forment des associations singulières. La surface est recouverte à 90 % par cette végétation aquatique subdivisé en 14 groupements dont dix associations, 82 espèces végétales recensées qui appartiennent à 31 familles botaniques, dont 32 espèces (39% de l'ensemble) sont classées d'assez rares à rarissimes telles que *Marsilea diffusa*, *Nymphaea alba*, *Utricularia exoleta* [Kadid, 1989].

1-2-3-Faune remarquable :

1-2-3-1-Les mammifères :

La faune mammalienne du bassin versant du Tonga, tous écosystèmes confondus est représentée par 37 espèces. Certaines de ces espèces sont rares et localisées. La loutre *Lutra lutra* espèce rare et menacée d'extinction, confinée au lac Tonga reste tributaire de l'intégrité de son biotope [Ghalmi, 1997]. Le cerf de barbarie *Cervus elaphus barbarus*, seul grand mammifère du Maghreb tellien du Maroc à la Tunisie, en Algérie il est confiné au Nord de la région frontalière Algéro-tunisienne et occupe donc toute la subéraie, la pineraie et la cocciferaie de bassin versant du Tonga et sa présence à l'intérieur des frontières algériennes est fortement liée à la présence d'eau dans le bassin versant, et le lac Tonga en périodes de sécheresse est l'unique point d'eau des deux côtés de la frontière. Le caracal *Caracal caracal* est le plus grand félin d'Afrique du Nord. Grand prédateur, très rare, sa survie est conditionnée par la disponibilité de territoires forestiers de grande taille.

1-2-3-2-Les oiseaux d'eau :

Quelques dizaines de milliers d'oiseaux d'eau (Canards, Oies, Rallidés, Ardéidés, Limicoles et autre), hivernent au Tonga, c'est un aussi un site de nidification pour un nombre important d'espèces aviaires, parmi elles, nous avons une colonie d'Ardéidés représentée par des Hérons et des Aigrettes. Le Busard des roseaux *Circus aeruginosus*, la poule d'eau *Gallinula chloropus*, le Râle d'eau *Rallus aquaticus*, l'Erismature à tête blanche *Oxyura leucocephala*, le Fuligule nyroca *Aythya nyroca*, la Talève sultane *Porphyrio porphyrio*, le Blongios nain *Ixobrychus minimus*, la Guifette moustac *Chlidonias hybridus*, l'Ibis falcinelle *Plegadis falcinellus*. On y rencontre également la Sarcelle marbrée *Marmaronetta angustirostris* et la sarcelle d'été *Anas querquedula*, le flamant rose, la spatule blanche et d'autres espèces [Boumezbeur, 1990 ; 1993 ; Belhadj et al., 2007].

2- Choix des stations de prélèvement :

Les sites où seront prélevés les échantillons pour refléter la qualité de l'eau de la région où on les a prélevés, d'où on doit éviter de prélever dans des zones proches du bord. Dans ces zones on peut rencontrer des concentrations considérables de sable et de sédiments. Pour cette raison, les lieux de prélèvement d'échantillons sont généralement choisis aux endroits où la profondeur de l'eau se situe entre 1 et 1,5m [Lightfoot, 2002].

Pour contribuer à l'évaluation de la qualité bactériologique et phytoplanctonique de l'eau de Lac Tonga nous avons choisi trois points de prélèvement (Tab 05), (Fig04)

Tableau 05 : Présentation des sites et période de prélèvement.

Points de prélèvement	Date de prélèvement	Heure de prélèvement
Site 1 (36°83'N 8°47'E)	16/03/2013	12h00
	19/04/2013	11h45
Site 2 (36°86'N 8°48'E)	16/03/2013	13h00
	19/04/2014	12h30
Site 3 (36°87'N 8°53'E)	16/03/2013	13h50
	19/04/2014	13h30



Figure 04 : Localisation des points de prélèvement [09].

3-L'échantillonnage :

Un examen microbiologique ne peut être valablement interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé, dans un récipient stérile, selon un mode opératoire précis évitant toute contamination accidentelle, correctement transporté au laboratoire et analysé sans délai ou après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes [Rodier et *al.*, 2005].

3-1-Matériel de prélèvement :

La verrerie destinée aux prélèvements d'eau pour les analyses bactériologique doit être munis d'un nettoyage avec un détergent puis rinçage avec l'eau propre (eau douce), puis un rinçage final avec l'eau distillée [Lightfoot, 2002].

Il faut utiliser de préférence des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à vis métallique [Rodier et *al.*, 1996]. Stérilisés soit à l'autoclave (120° C) durant 15 minutes, soit au four Pasteur (170° C) durant 1 heure [Rodier et *al.*, 2009]. Le récipient utilisé doit assurer, une fois bouché, une protection totale contre toute contamination [Rodier et *al.*, 1996].

Pour éviter les risques de contamination, les flacons choisis pour l'échantillonnage ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement de l'eau et une fois l'opération est effectuée, ils doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse.

Pour l'analyse phytoplanctonique on utilise des bouteilles en matière plastique de un litre (1L) en raison des facilités qu'elles présentent pour le transport et leur faible coût.

Pour le dosage de chlorophylle on utilise des bouteilles en matière plastique opaque de un litre (1L) et les échantillons doit être stockés à l'obscurité à +4°C [Jean-Claude et *al.*, 2008].

3-2- Méthode de prélèvement :

Les techniques de prélèvement sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser. Pour une eau de surface (eau superficielle), les flacons stériles sont plongés à une distance qui varie de 25 à 30 cm de la surface assez loin des bords, ainsi que des obstacles naturels ou artificiels [Rodier et *al.*, 1996].

Le prélèvement de nos échantillons à été effectué manuellement au niveau de la colonne d'eaux de lac Tonga sur des points de prélèvement fixes en utilisant des flacons stériles de 250 ml pour l'analyse bactériologique.

Rinces au moment de l'emploi avec l'eau à examiner, les flacons sont ouverts sous l'eau, goulot dirigé à contre-courant, ensuite le bouchon est également placé sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport [Rodier et *al.*, 1996].

Pour l'analyse phytoplanctonique une quantité d'eau (environ 1L) est prélevée aseptiquement dans la colonne d'eau, puis on a ajouté 2 ml du Lugol pour fixer les phytoplanctons, les trois échantillons doit être stockés à l'obscurité à +4°C [Jean-Claude et *al.*, 2008].

3-3- Enregistrement et étiquetage des échantillons :

Il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et non détachables. Dans ces derniers, on doit noter avec précision : la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales [Lightfoot, 2002]. Nous rappelons ici que c'est le paramètre phytoplanctonique qui a permis le choix du midi solaire comme heure de prélèvement, comme l'a suggéré [Oudra (1987 ; 1990)].

3-4-Transport et conservation des échantillons avant l'analyse :

Les échantillons soigneusement étiquetés sont placés dans une glacière à + 4°C et transportés ensuite au laboratoire.

Si la durée du transport dépasse 1 heure, et si la température extérieure est supérieure à 10°C, les prélèvements seront transportés dans des glacières dont la température doit être comprise entre 4 à 6° C. Même dans ces conditions, l'analyse bactériologique doit débiter dans un délai maximal de 8 heures, après le recueil de l'échantillon [Rodier et *al.*, 1996].

La totalité de nos analyses ont été réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie du département de biologie de l'université du 08 Mai 1945 de Guelma.

4- Les analyses physicochimiques mesurées *in situ* :

Les mesures *in situ* sont des analyses réalisées sur place en plongeant directement les sondes dans l'eau.

La température, pH, conductivité électrique, l'oxygène dissous ont été mesurés à l'aide de trois sondes d'un multiparamètres de terrain de marque WTW inoLab Multi 720 [Sayad , 2008].

Ces paramètres sont très variables aux conditions du milieu et ils permettent une estimation de la qualité générale de l'eau. En effet ces paramètres sont très sensibles aux conditions du milieu et sont susceptibles de changer dans des proportions importantes s'ils ne sont pas mesurés sur site.

4-1-La température :

C'est important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet celle ci joue un rôle dans la solubilité des gaz, dans la dissociation des sels dissous et dans la détermination du pH, pour la connaissance de l'origine de l'eau et les mélanges éventuels, etc. En outre, cette mesure est très utile pour les études limnologiques. Et d'une façon générale, la température des eaux est influencée par l'origine dont elles proviennent (superficielles ou profondes) [Rodier, 1984].

4-2- Potentiel hydrogène pH :

La mesure du pH des eaux usées donne une indication sur l'alcalinité ou l'acidité de ces eaux. Il est important pour la croissance des micro-organismes qui ont généralement un pH optimal variant de 6,5 à 7,5. Des valeurs de pH inférieures à 5 ou supérieures à 8,5 affectent directement la viabilité et la croissance des micro-organismes [Mara, 1980 ; WHO, 1987]. Le pH est donc l'un des paramètres les plus importants de la qualité de l'eau. Il doit être étroitement surveillé au cours de toutes opérations de traitement [Rodier et *al.*, 1996].

4-3- La conductivité électrique :

La conductivité représente l'un des moyens de valider les analyses physicochimiques de l'eau, en effet des contrastes de conductivité mesurés sur un milieu permettent de mettre en évidence des pollutions.

La conductivité est également fonction de la température de l'eau, elle est plus importante lorsque la température augmente. Elle sert aussi d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau [Rodier, 1984].

4-4- L'oxygène dissous :

L'oxygène dissous dépend essentiellement de la respiration et de la Photosynthèse des populations planctoniques et de la minéralisation de la biomasse. La teneur en oxygène dissous dans l'eau est étroitement liée au régime thermique du lac [Villeneuve et al., 2006].

5-Les analyses bactériologiques :

Le principe général des techniques des analyses microbiologiques des eaux consiste à ensemercer une quantité connue d'eau à analyser sur un milieu de culture adapté, solide ou liquide. On suppose que, pendant l'incubation, chaque microorganisme présent se développe pour donner soit une colonie visible sur un milieu solide, soit des changements d'apparence dans un milieu liquide essentiellement un trouble de celui-ci [Rejsek, 2002].

Le choix des méthodes d'examen bactériologique des eaux dépendra de la nature de l'échantillon mais aussi de la sensibilité et de la précision souhaitées [Rodier et al., 2005].

Avant chaque prise d'essai, l'échantillon doit être homogénéisé soigneusement par agitation du flacon. Il est procédé dans un premier temps au dénombrement des microorganismes revivifiables, puis aux autres dénombrements [Rejsek, 2002].

5-1- Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables :

Les germes totaux dit revivifiables sont la totalité des bactéries, levures et moisissures aéro-anaérobies, capables de former des colonies dans ou sur un milieu de culture.

▪ Principe :

- Dans des boîtes de pétri vides, stériles et numérotées, on met 1 ml d'échantillon non dilué et de diverses dilutions de cet échantillon. (Soit : 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}).
- Complète ensuite avec environ 15 à 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à 45° C.
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de «8» pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.
- Laisser solidifier sur paillasse environ 15 min.
- Effectuer cette opération en double série de boîtes, dont la 1^{ère} sera incubée à l'obscurité, couvercle en bas, dans une étuve à 22° C pendant 72 heures et la 2^{ème} dans une étuve à 37°C durant 48 heures [Rodier et al., 2009].

▪ Lecture et dénombrement :

- Retenir pour comptage les boîtes contenant des colonies qui apparaissent en masse sous formes lenticulaires et bien distinctes. Retenir aussi les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies, au niveau de deux dilutions successives.

-Calculer ensuite la valeur du nombre N de microorganismes revivifiables à 22° C à part et celle du nombre N de microorganismes revivifiables à 37° C à part, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum c}{1.1 \times d}$$

Où :

$\sum c$: est la somme des colonies dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

d: est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule. Le résultat final de microorganismes revivifiables dénombrés à 22° C et à 37° C par ml d'eau est noté par un nombre compris entre 1.0 et 9.9 multiplié par 10^x où x est la puissance appropriée de 10 [Labres et al, 2008].

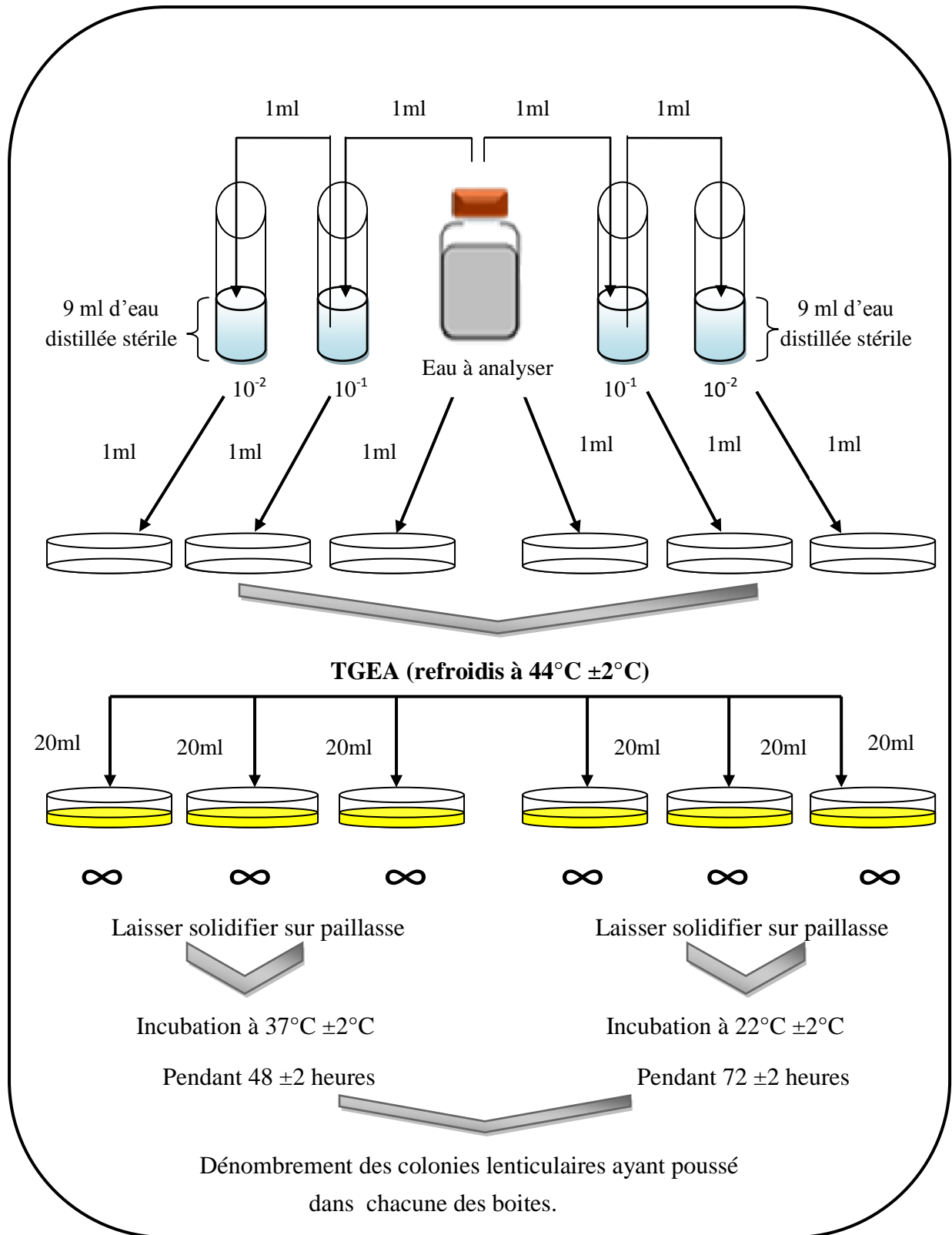


Figure 05 : Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables

5-2- Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et identification d'*E. coli* :

La population microbienne qui se trouve dans l'eau peut avoir plusieurs origines ; soit elle est purement aquatique, terrestre (vient du sol, des végétaux au voisinage du cours d'eau), ou bien d'origine humaine ou animale (contamination fécale) [Abdellioui et *al.*, 2012].

Les coliformes totaux sont des indicateurs de pollution d'origine organique dans les eaux de surface, les eaux souterraines, les sources d'approvisionnement ou les canalisations d'eau potable. Une eau traitée ou une eau souterraine bien protégée ne devraient pas contenir de coliformes totaux, mais leur présence ne constitue pas un risque immédiat pour la santé [03].

Sous le terme de « Coliforme » est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae* [Rodier et *al.*, 2005], correspond à des organismes en bâtonnets (bacilles) ,non sporogènes ,Gram négatif, oxydase négative, aérobies ou anaérobies facultatifs, capable de croître en aérobiose à 37°C ±1, en milieu liquide bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) [Rejsek, 2002], et capable de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37°C [Rodier et *al.*,2005].

Le dénombrement de coliformes à 37°C est souvent désigné sous l'expression de « dénombrement des coliformes totaux ». Les coliformes totaux comprennent autres les genres : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia*. [Rodier et *al.*, 2005]

Le terme de « coliformes fécaux » ou de « coliformes thermo-tolérants » correspond à des coliformes qui présentent les mêmes propriétés (caractéristiques des coliformes) après incubation à la température de 44 °C [Rodier et *al.*, 2005]. L'espèce la plus fréquemment associées à ces groupes bactériens est *Escherichia coli* et dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* [03].

Escherichia coli fait partie des coliformes thermo-tolérants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane et possèdent les caractères biochimiques spécifiques de cette espèce [Rejsek, 2002].

➤ Mode opératoire

La recherche et dénombrement des bactéries coliformes, coliformes thermo-tolérants et des *Escherichia coli* dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives :

- Le test présomptif : réservé à la recherche des coliformes dans le milieu BCPL (Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol)
- Le test confirmatif : réservé à la recherche des coliformes thermo-tolérants et d'*Escherichia coli* [Lebres, 2002].

a-Test présomptif :

On travaille avec une série de 3 tubes :

-3 tubes de BCPL D/C+ cloche de Durham, ensemencé avec 10 ml de l'échantillon.

-3 tubes de BCPL S/C+ cloche de Durham, ensemencé avec 1 ml de l'échantillon.

-3 tubes de BCPL S/C+ cloche de Durham, ensemencé avec 0.1 ml de l'échantillon.

-Les tubes inoculés sont homogénéisés par agitation douce pour ne pas faire pénétrer d'air dans la cloche.

-L'incubation se fait dans une étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures [Lebres ,2002].

➤ Lecture :

Seront considérés positifs les tubes où il se produit simultanément à la fois :

-Un dégagement de gaz (supérieurs au 1/10 de la hauteur de la cloche).

-Un trouble microbien accompagné d'un virage de la couleur de milieu vers le jaune ce qui indique une fermentation du lactose du milieu (la production d'acide suite à la fermentation du lactose ce qui entraîne le virage du bromocrésol pourpre au jaune).

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP [Lebres ,2002]. Pour avoir le nombre de coliformes totaux dans 100 ml d'échantillon d'eau.

b-Test confirmatif :

Le test confirmatif est basé sur la recherche de coliformes thermo-tolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

Repique chaque tube de BCPL trouvé positive avec une anse bouclée ou une pipette pasteur stérile dans le (ou les) milieu(x) de confirmation [Rodier et *al.*, 2009]. Comme milieu de confirmation, on a utilisé: le milieu eau peptonée exempte d'indole.

L'incubation fait cette fois à 44°C pendant 24 heures [Lebres, 2002].

➤ **Lecture :**

Dans les tubes montrant un trouble microbien ajouter quelques gouttes de réactive kovacs, une réaction considérée positive correspond à la formation d'anneaux rouges à la surface de tube autrement dit présence de coliformes fécaux « *E. coli* ».

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP [Lebres, 2002].

-Remarque : Etant donné que les Coliformes fécaux font partie des Coliformes totaux, il est pratiquement impossible de trouver plus de Coliformes fécaux que de Coliformes totaux [Avril et *al.*, 1992].

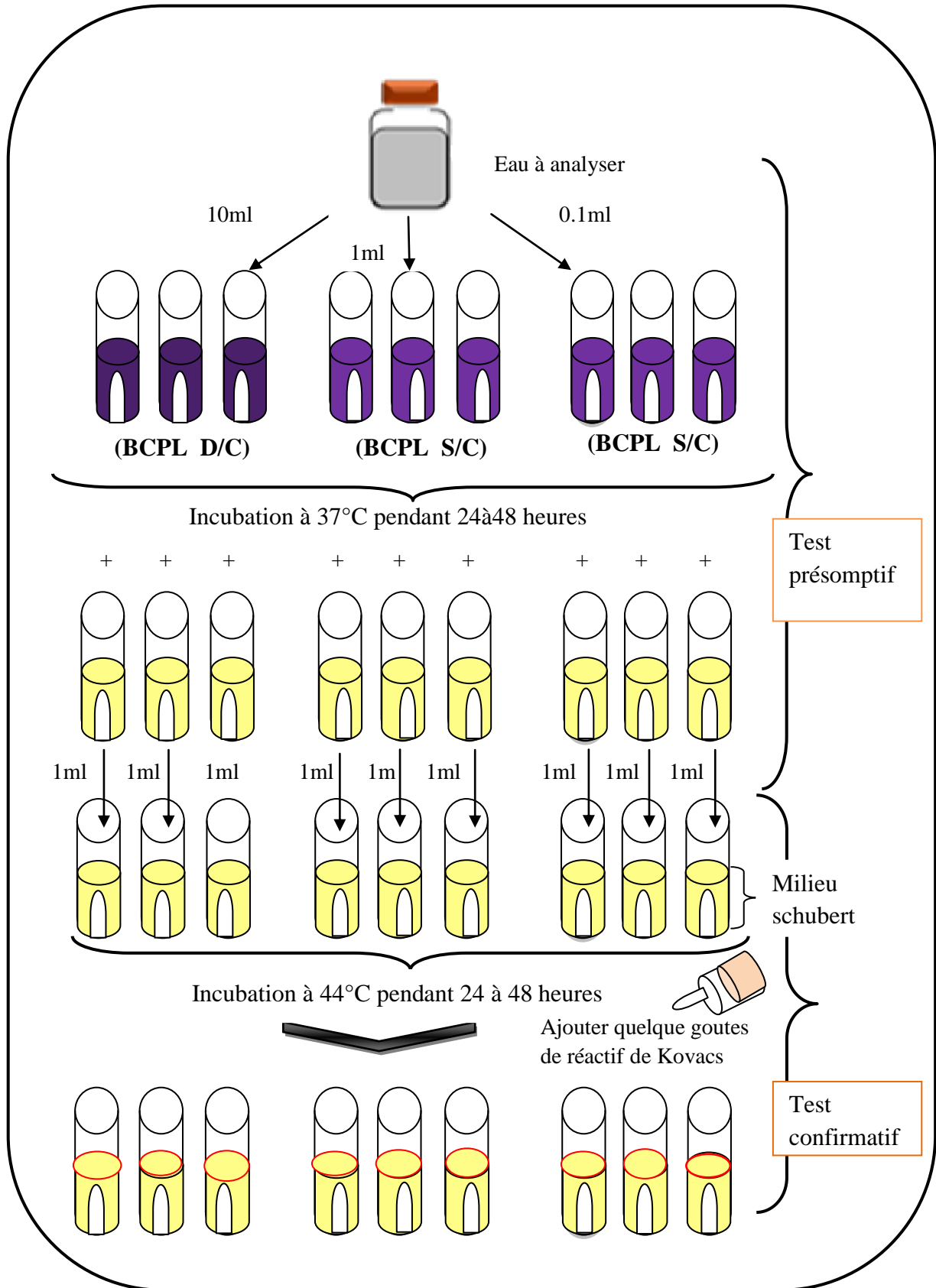


Figure 06 : Protocole de recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et *E.coli*.

5-3-Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (*Enterococcus*) :

Les Streptocoques, du groupe «D» de la classification de Lancefield, sont des bactéries Gram positif, sphérique à ovoïdes, formant des chainettes, ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène de groupe «D». Cultivant en anaérobiose à 44°C, et à pH 9,6 et capable d'hydrolyse l'esculine en présence de 40 % de bile [Rejsek, 2002].

Ce sont des germes très ubiquitaire, certains groupe sont rencontrés dans le sol, dans l'air, dans l'eau et en distingue deux genres : Streptococcus et Enterococcus.

➤ **Mode opératoire :**

La recherche et le dénombrement des streptocoques du groupe «D» dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait aussi en deux étapes consécutives :

- Le test de présomption : réserve à la recherche présomptive des streptocoques.
- Le test de confirmation: réserve à la confirmation réelle des streptocoques du groupe «D».

a- Test de présomption :

L'inoculation du milieu de culture s'effectue comme le cas précédent pour le milieu BCPL. Le dénombrement est réalisé en milieu liquide sur bouillon glucosé à l'azote (Roth).

On travaille avec une série de 3 tubes :

- 3 tubes de Roth D/C, ensemencé avec 10 ml de l'échantillon.
- 3 tubes de Roth S/C, ensemencé avec 1 ml de l'échantillon.
- 3 tubes de Roth S/C, ensemencé avec 0.1 ml de l'échantillon.

L'incubation des tubes ensemencés s'effectue dans l'étuve à 37° C pendant 24 à 48 heures [Lebres, 2002].

➤ **Lecture :**

Seront considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien, seulement ces tubes doivent faire l'objet d'un repiquage sur le milieu Eva Litsky.

b -Test confirmation :

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des streptocoques du groupe «D» éventuellement présents dans le test de présomption.

Après agitation les tubes de Roth trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans des tubes contenant le milieu Eva Litsky. Bien mélanger le milieu et l'inoculum [Lebres, 2002]. L'incubation se fait à 37°C, pendant 24 heures.

➤ Lecture

Seront considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.

La lecture finale s'effectue également selon la prescription de la table du NPP [Lebres, 2002].

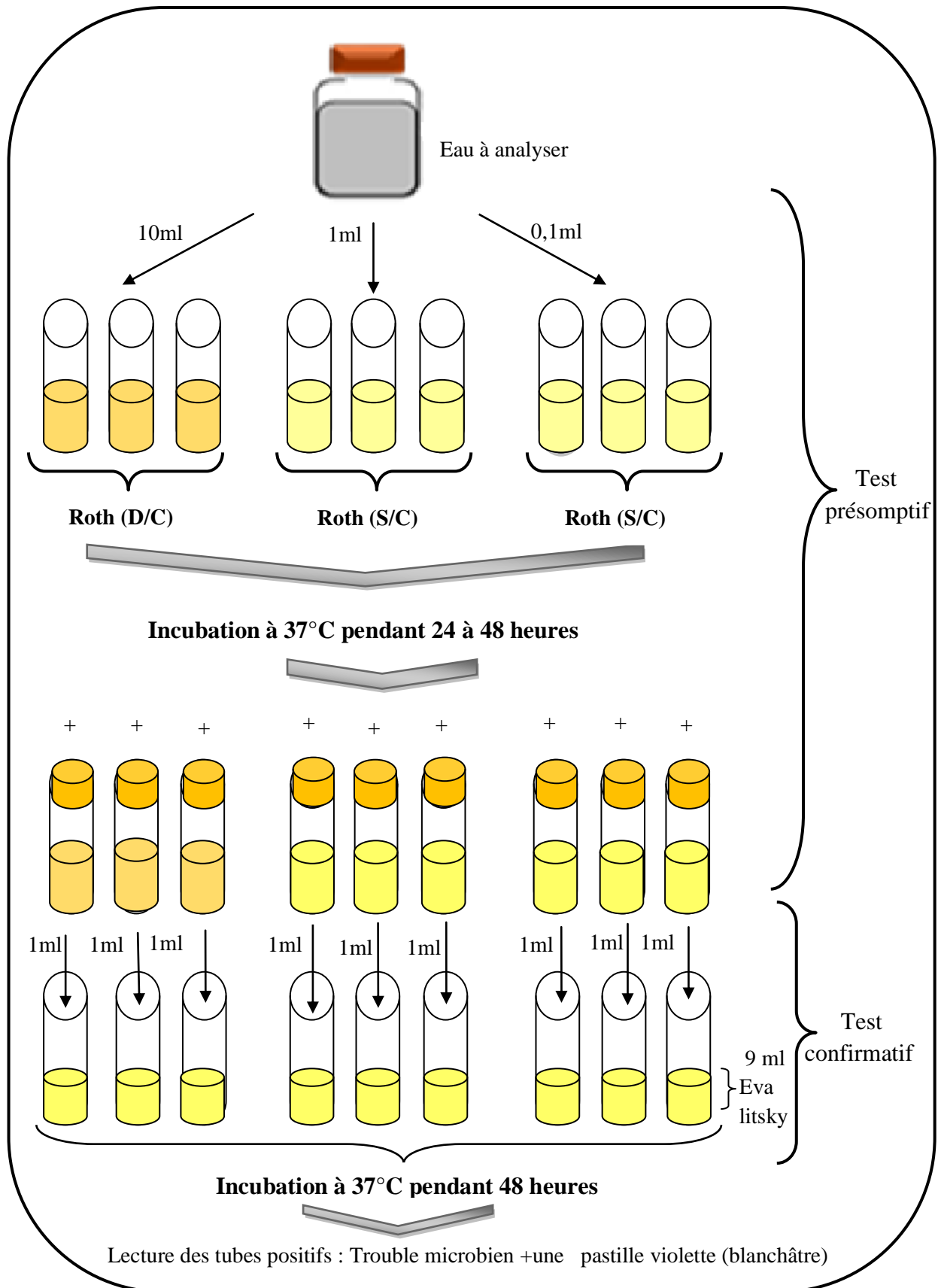


Figure 07 : Protocole de recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.

5-4-Recherche et dénombrement des spores des bactéries Anaérobies sulfite -réducteur (*Clostridium*)

Les anaérobies sulfite-réducteurs (ASR) se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie (VF) en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire [Lebres, 2002]. Les *Clostridium* sulfite-réducteurs sont souvent considérées comme des témoins de pollution fécale ancienne [Rodier et *al.*, 2005].

▪ Mode opératoire :

La recherche et le dénombrement des spores des ASR dans l'eau se fait par la méthode d'incorporation en gélose sur tubes profonds :

-Après l'homogénéisation, prendre environ 25ml d'eau à analyser dans un bécher stérile, qui sera par la suite soumis, à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes au bain marie, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.

-Après chauffage, laisser refroidir.

-Répartir ensuite le contenu de ce bécher, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.

-Ajouter dans chacun d'eux environ 15 ml de gélose Viande Foie, fondue, additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium, puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.

-Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant la formation des bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.

-Laisser solidifier sur paille pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37° C, pendant 16 à 48 heures [Lebres, 2002].

➤ Lecture :

- La première lecture doit absolument être faite à 16 heures, la deuxième lecture se fait à 24 heures et la troisième et dernière à 48 heures.

-dénombrement sur les 04 tubes de culture, la totalité des colonies noires de 0,5 mm de diamètre, poussant en masse [Rejsek, 2002].

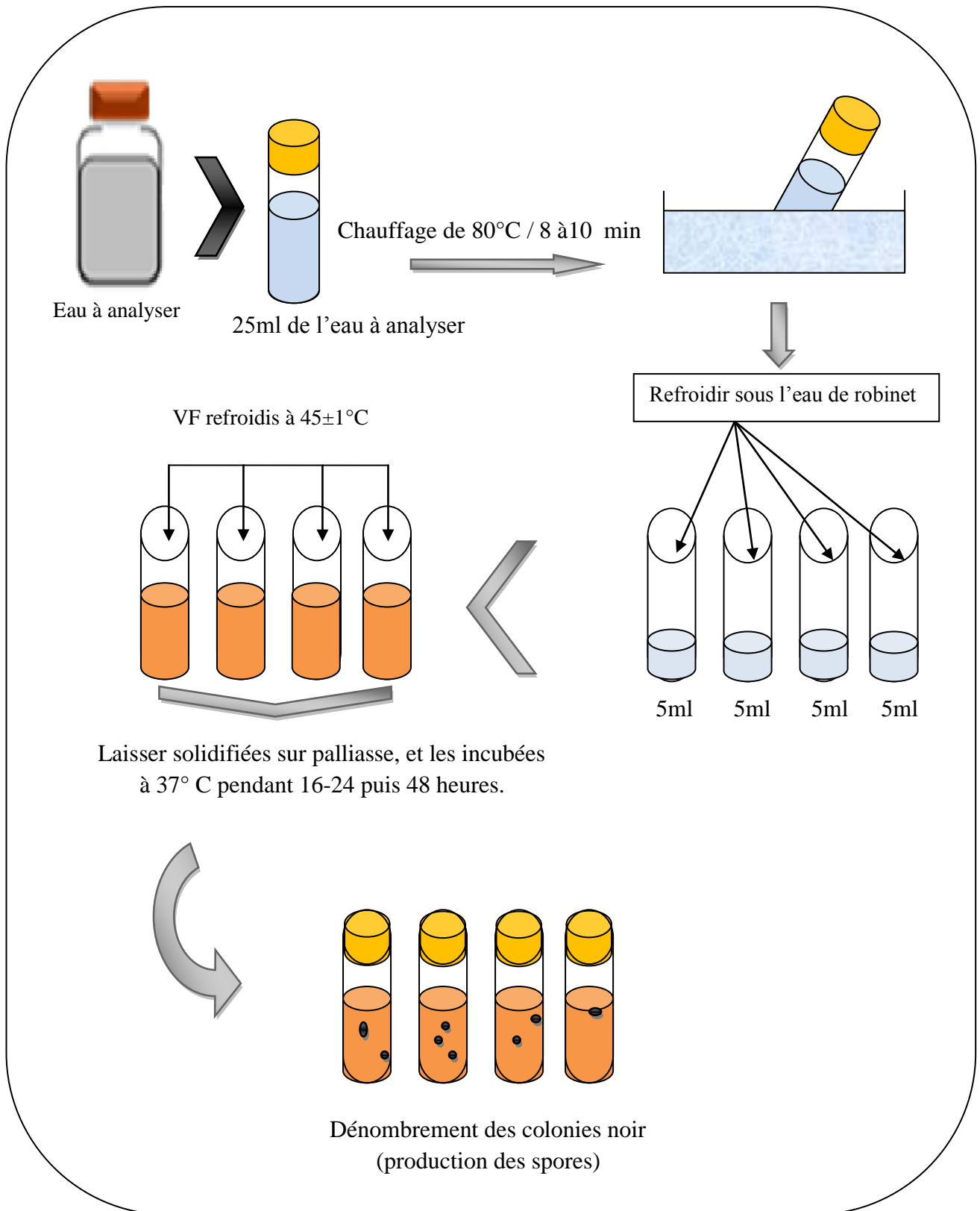


Figure 08 : Protocole de recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies.

5-5-Recherche des germes pathogènes :

Les bactéries pathogènes d'origine fécale peuvent être recherchées pour confirmer le danger mis en évidence par la présence, dans un échantillon d'eau, de bactéries indicatrices de contamination fécale. Cette recherche est souvent pratiquée en liaison avec la déclaration de cas de maladie infectieuses dont on suspecte une origine hydrique .en pratique, de manière courant, on recherche seulement Salmonella et Shigella [Rejsek,2002] .

Cependant, il existe des microorganismes d'origine non fécale dont le risque sanitaire ne peut être évalué que par la recherche du microorganisme pathogène ; *pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* [Rejsek, 2002].

Les géloses Hectoen, SS, Mac conky, cétrimide, sont des milieux d'isolement des germes pathogène, bien que de nombreuses bactéries à gram négatif puissent se développer sur ces milieux [Khaled, 2009].

5-5-1-Recherche des Staphylocoques :

Les Staphylocoques sont des germes ubiquistes [Delarras, 2007], font partis de la famille des micrococcaceae. Ce sont des coques à gram positive, groupés en amas, catalase positive, et qui se développent à 37+-1°C sur un milieu sélectif : Chapman sans distinction de coloration des colonies, qui possèdent une coagulase pour le plasma de lapin [Rejsek, 2002]. Le genre *Staphylococcus* est constitué de plusieurs espèce dont : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*.

➤ Mode opératoire :

L'isolement des *Staphylocoques* se fait dans le milieu sélectif Chapman, permettent la croissance des germes halophiles. Ce milieu du fait de la haute concentration de chlorure de sodium (75g/l) a inhibe le développement des germes gram négatif et certaine bactéries [Aouissi, 2010].

-A partir de l'eau à analyser, et à l'aide d'une anse de platine stérile, ensemercer par stries sur des boites de pétri coulée de gélose Chapman [Benamira, 2012].

-L'incubation se fait à 37+-°C pendant 24 à 48 heures [Delarras, 2007].

-En cas de résultat négatif on laisse les boites 24h à la température du laboratoire [Delarras et al., 2008].

➤ **Lecture et interprétation :**

Les colonies jaunes entourées d'une zone jaune (halo), manitol+ sont des *Staphylococcus aureus*, *S.saprophyticus*..... [Delarras, 2007].

Les colonies entourées d'une zone rouge ou pourpre, manitol- sont des *Staphylococcus epidermis*, *S.hominis*..... [Delarras, 2007].

-Dans tous les cas, observer les colonies présomptives des Staphylocoques recherchés (colonies jaunes entourées d'un halo jaune de *Staphylococcus aureus*) et procéder à leur identification biochimique [Delarras, 2007].

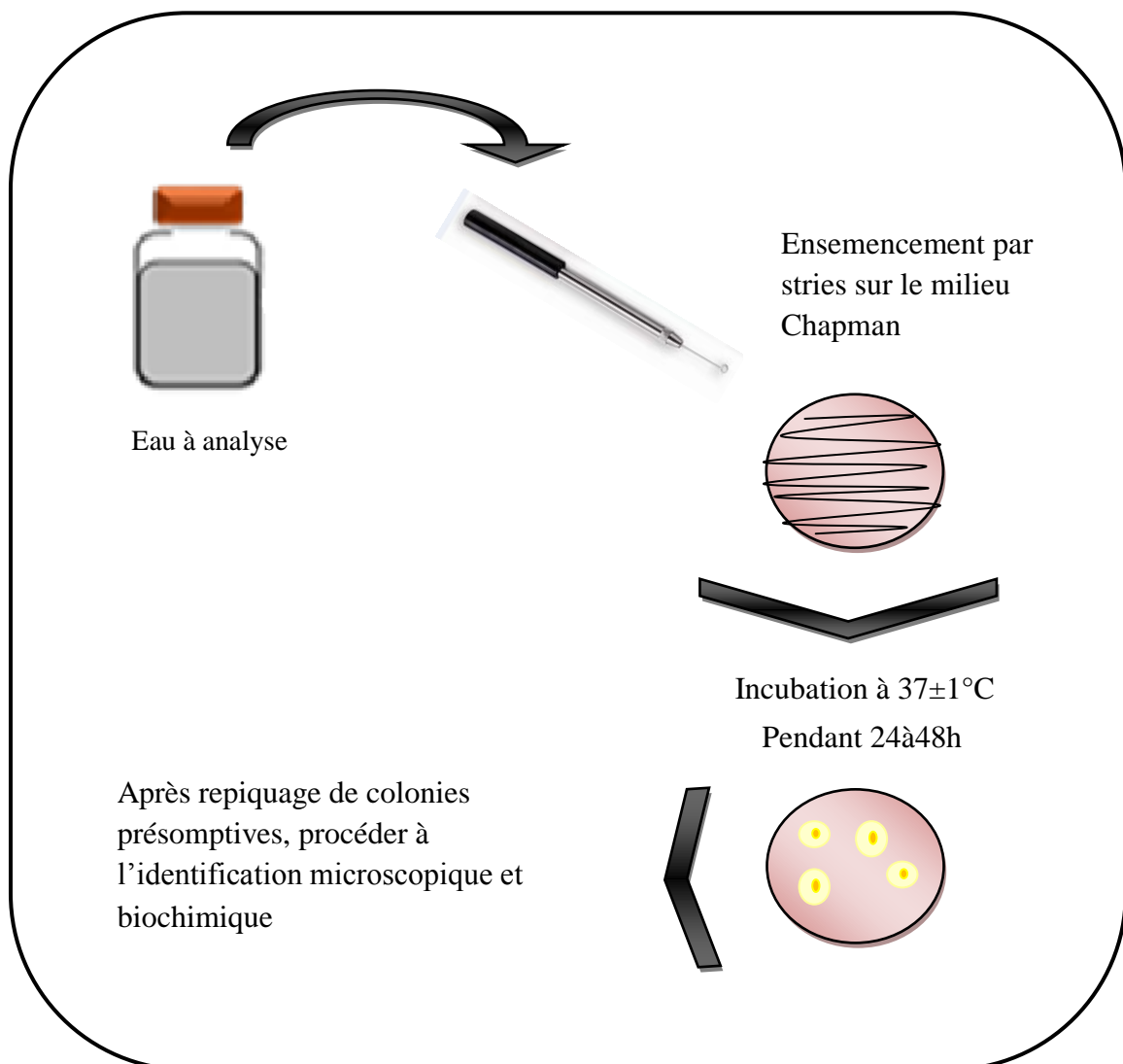


Figure 09 : Protocole de recherche des Staphylococcus.

5-5-2-Recherche de Salmonella :

Le genre Salmonella est l'un des 32 genres de la famille des *Enterobacteriaceae* [Labres et *al.*, 2008]. Ce sont des bactéries à gram négatif, oxydase négatives, anaérobies facultatives, asporulées, en forme de bâtonnet, qui forment des colonies typiques sur milieu sélectif solide elle présente les caractères biochimique et sérologique de ce genre d'entérobactérie [Rejsek, 2002], mobiles pour la plupart avec des flagelles péritriches, ne fermentant pas le lactose, mais fermentant le glucose avec production de gaz et de H₂S [Labres et *al.*, 2008].

➤ Mode opératoire :

Premier Enrichissement :

Le premier enrichissement s'effectue sur le milieu SFB (Bouillon au sélénite/ bouillon de Leifson) en ajoutant à ce dernier 10ml d'eau à analyser, puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures [Labres et *al.*, 2008].

Deuxième enrichissement et isolement :

Ce flacon fera l'objet :

- ✚ D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu SFB en tubes à raison de 0,1 ml.
- ✚ d'autre part, d'un isolement sur gélose SS (Salmonella-Shigella). L'incubation se fait donc à 37°C pendant 24 heures [Labres et *al.*, 2008].

Lecture des boîtes et identification :

- ✚ D'une part, le tube de Sélénite fera l'objet d'un 2^{ème} isolement,
- ✚ D'autre part, la boîte de gélose SS subira une lecture en tenant compte du fait que les Salmonella se présentent le plus souvent sous forme de colonies à centre noir [Pilet, 1987].

Identification morphologique et biochimique :

Les colonies obtenues feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroule comme suit :

- ✚ Ensemencement d'un tube de Kligler-Hanja ou TSI qui sera incubé à 37°C, 24 h (Lactose, Saccharose, Glucose, Gaz et H₂S) [Camille et *al.*, 2003].
- ✚ Identification biochimique par l'API20E.

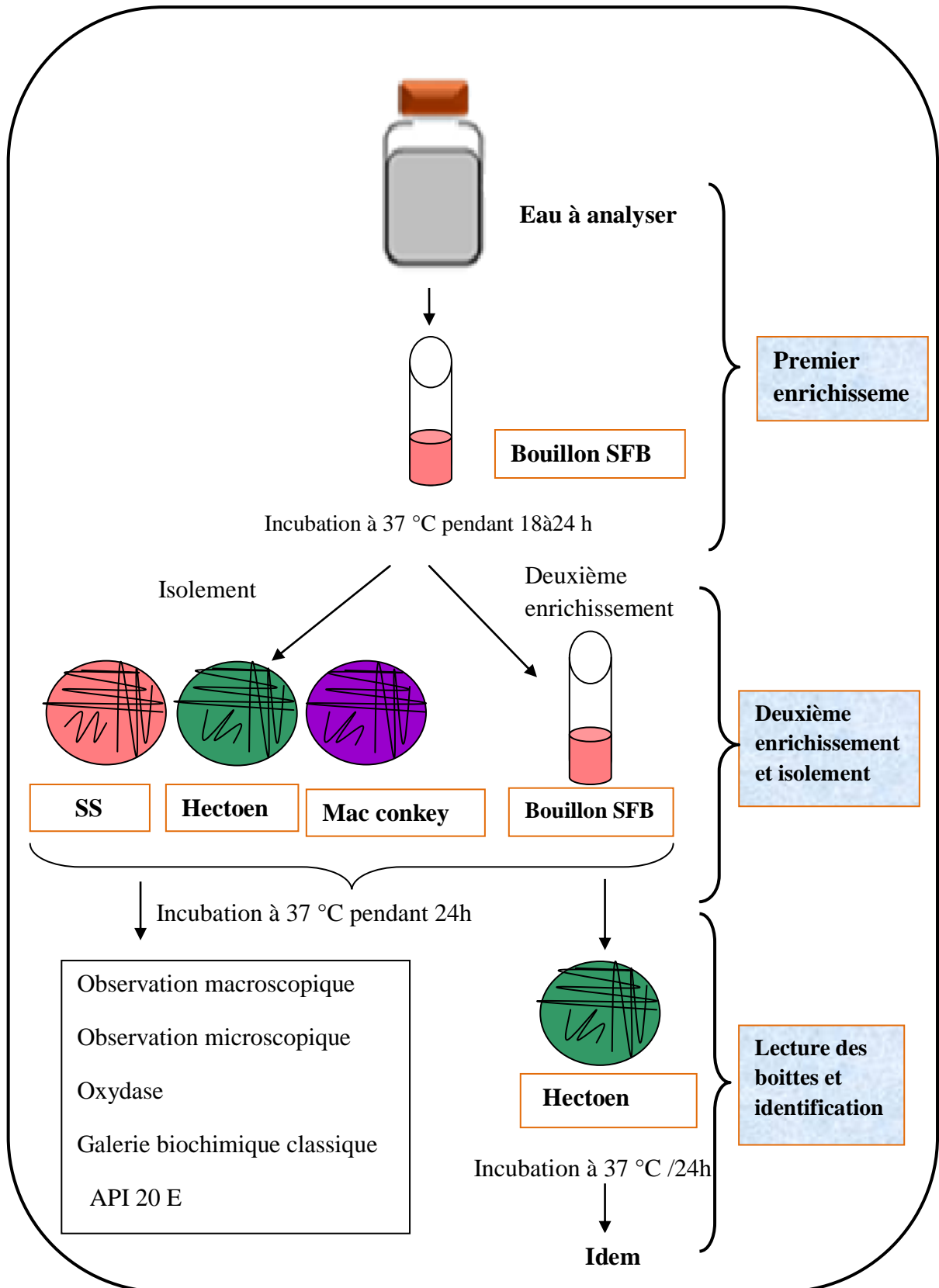


Figure 10: Protocole de recherche et identification de Salmonella

5-5-3-Recherche de Shigella :

Les shigelles sont des Enterobacteriaceae, rencontrées exclusivement chez l'homme. Elles ne font partie d'aucune flore commensale chez l'homme, elles sont toutes pathogènes et spécifiques du tube digestif ; éliminées par les selles et dispersées dans les sols et les eaux où elles ne survivent que peu de temps [Carbonnelle et *al.*, 1988].

➤ Mode opératoire :

Pour chercher du shigella, à partir de l'échantillon mère on prélève 0,1 ml et on l'étale sur la surface de gélose. L'incubation se fait à 37°C, pendant 24 à 48 heures [Abdellaoui et *al.*, 2012].

➤ Lecture des boîtes et identification :

Après l'incubation les colonies qui sont lactose négatif sur SS vont subir un repiquage, et après, une identification morphologie et biochimique qui se déroule comme suit :

-Examen microscopique : état frais et coloration de Gram (bacille Gram négatifs).

-Ensemencement : soit d'une galerie biochimique classique ou d'une galerie biochimique API 20 E [Labres, 2002].

Tableau 06 : Caractères d'identification biochimique de Shigella [Sayad, 2008].

Milieu	Teste	Shigella
TSI	Glucose	+
	Lactose	-
	Saccharose	-
	H ₂ S	-
	Gaz	-
Mannitol-mobilité	Mobilité	-
Urée-indole	Uréase	-
	TDA	-
Citrate de simmons	Citrate	-

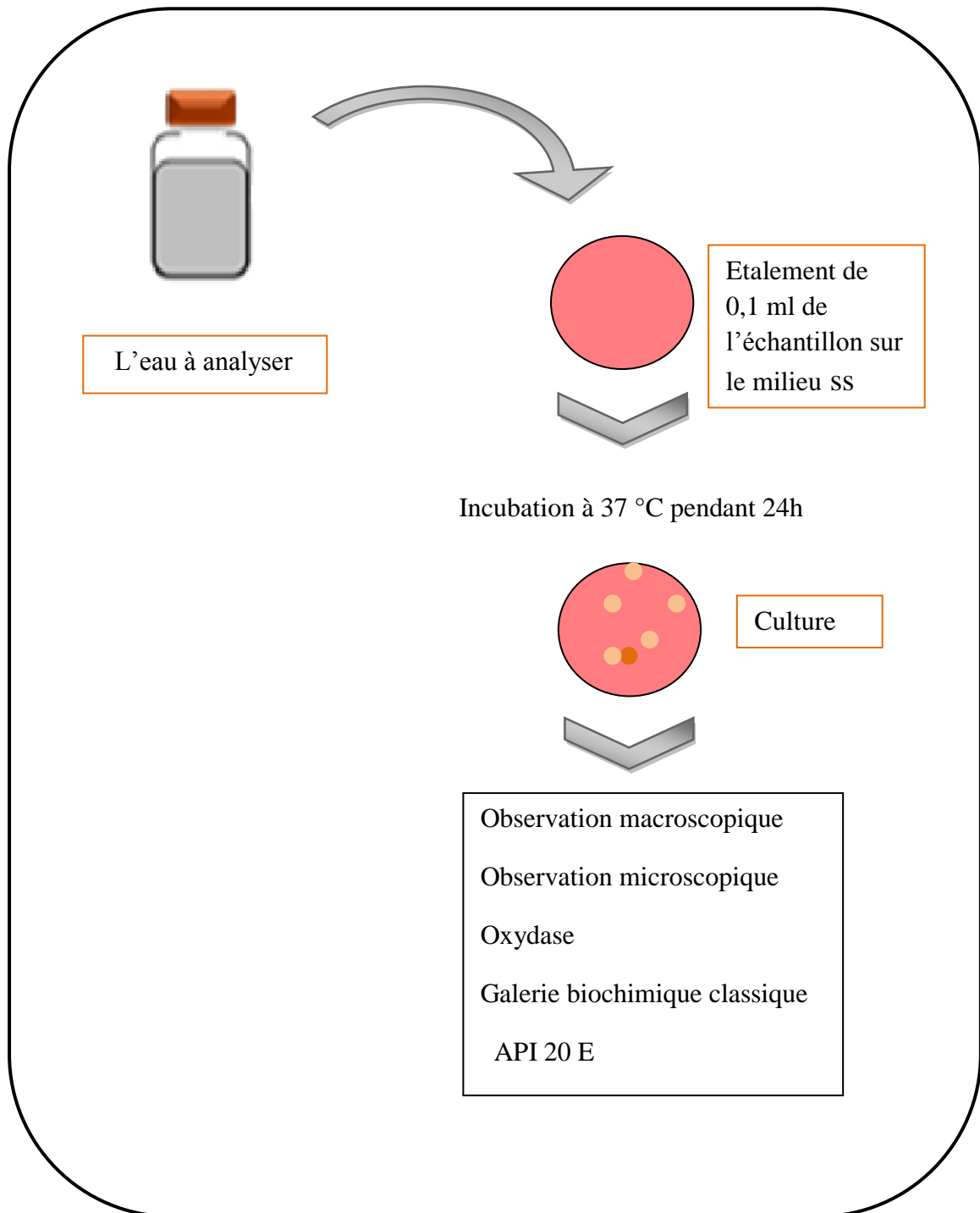


Figure11 : Protocole de recherche et identification de *Shigella*.

5-5-4-Recherche de Pseudomonas :

Microorganisme possédant une oxydase et se développant à $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ sur milieu sélectif au cétrimide et l'acide nalidixique en donnant lieu à fluorescence sous une lampe à ultraviolets en 48 h. ils sont, de plus, capables de cultiver sur une gélose ordinaire à 42°C et de synthèses un pigment : la pyocyanine [Rejsek, 2002]. La gélose cétrimide permet à la recherche et l'isolement sélectif de *Pseudomonas aeruginosa* (bacilles pycianique) [Delarras, 2007].

➤ **Mode opératoire :**

• **Isolement :**

-Soit : ensemencer par stries sur boites de pétri coulées de gélose cétrimide à partir de l'eau à analyser et incuber à 37°C pendant 24 à 48h [Delarras, 2007].

-Soit : ensemencer par stries sur un milieu de culture king A et king B à partir de l'eau à analyser et incuber à 37°C pendant 24 à 48 [Lebres, 2005].

➤ **Lecture et identification :**

Les colonies pigmentées en vert pale sont présomptives de *Pseudomonas* [Delarras, 2007], et vont subir :

-Un examen direct entre lame et lamelle (état frais), il permet d'observer la mobilité des germes.

-Une coloration de Gram [Abdellaoui et *al.*, 2012].

-Un test oxydase [Rejsek, 2002].

-Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleu intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu de king A [Abdellaoui et *al.*, 2012].

-Recherche de la pyoverdine : présente une teinte vert fluorescent est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de king B [Labres et *al.*, (2008), Abdellaoui et *al.*,(2012)].

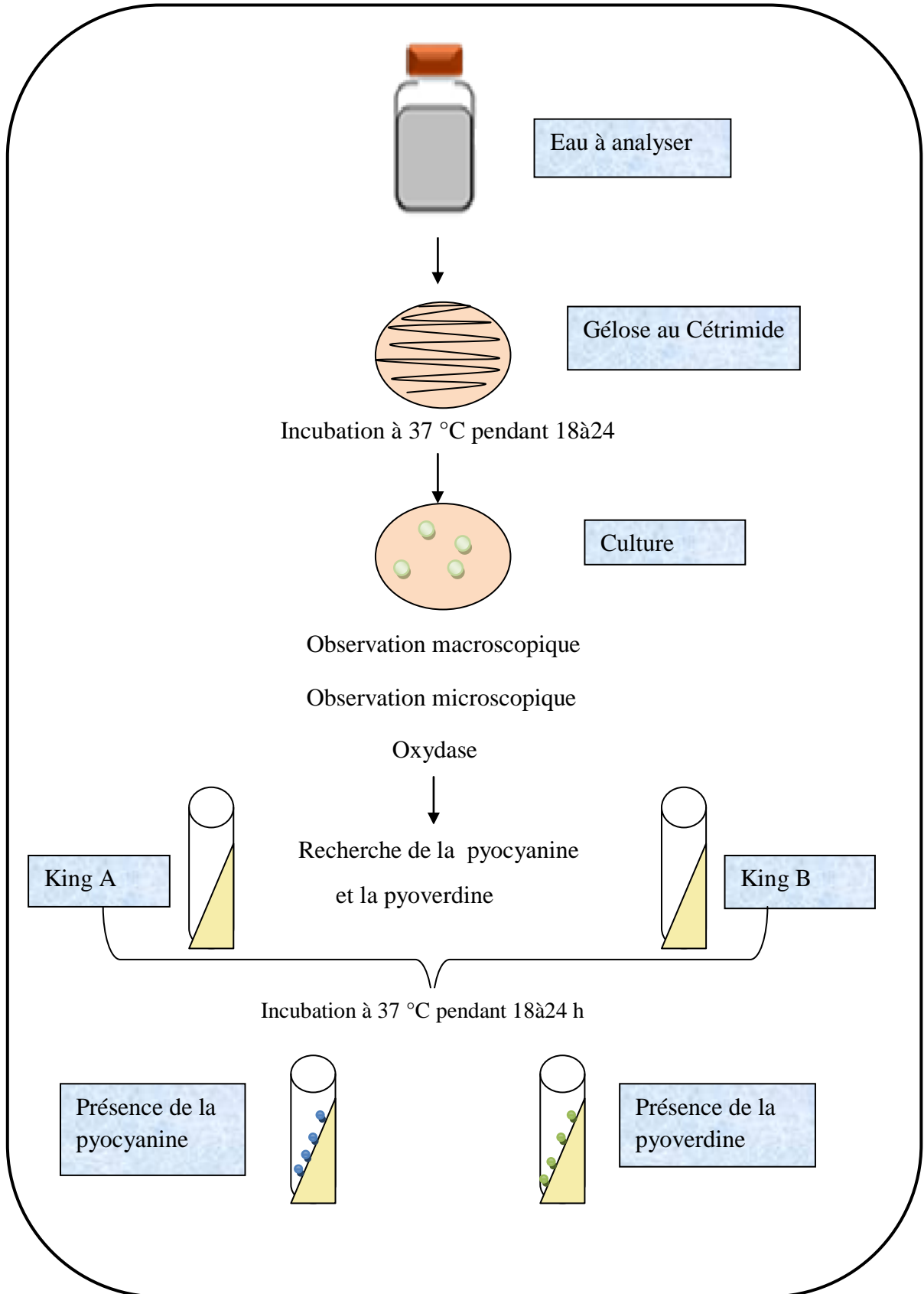


Figure 12 : Protocole de recherche de *Pseudomonas*.

5-5-5-Recherche des *Vibrio cholériques* :

On entend par Vibrionaceae, des bactéries qui se présentent sous forme de Bacilles à Gram Négatifs droit ou incurvés (BGN), très mobiles, possédant une oxydase, aéro-anaérobies facultatifs, fermentant le glucose sans production de gaz ni d'H₂S, hautement pathogènes [Labres et *al.*, 2008].

Premier jour : Enrichissement primaire

L'enrichissement primaire s'effectue sur le milieu Eau Peptonée Alcaline (EPA) en mettant une quantité d'eau à analyser dans un tube d'EPA. Ce dernier sera par la suite incubé à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 20 ± 4 heures [Hamed et *al.*, 2012].

Deuxième jour : Enrichissement secondaire et isolement

Après incubation, le tube constituant l'enrichissement primaire fera l'objet :

- D'un isolement sur gélose GNAB 1, l'incubation se à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 20 ± 4 heures.
- D'un deuxième enrichissement en transmettant quelques gouttes de la surface dans un nouveau tube d'EPA.
- D'autre part, la boîte de gélose GNAB 1 subira une lecture après 24 heures en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses, transparentes et très caractéristiques [Hamed et *al.*, 2012].

Identification morphologique et biochimique :

Les colonies sont très fines sur la gélose nutritive, jaunâtre sur la gélose hyperalcaline [Abdellaoui et *al.*, 2012].

Une identification morphologique et biochimique basée essentiellement sur :

- ✚ Observation à l'état frais (bacilles, mobilité),
- ✚ Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs),
- ✚ Oxydase (+),
- ✚ Ensemencement d'un tube de TSI qui sera incubé à 37°C , 24 h (Saccharose, Glucose, Gaz et H₂S) [Abdellaoui et *al.*, 2012].
- ✚ Faire une mini-galerie biochimique basée sur l'étude des acides aminés en vue de différencier les *Vibrions*, des *Pleisiomonas* et des *Aéromonas*.

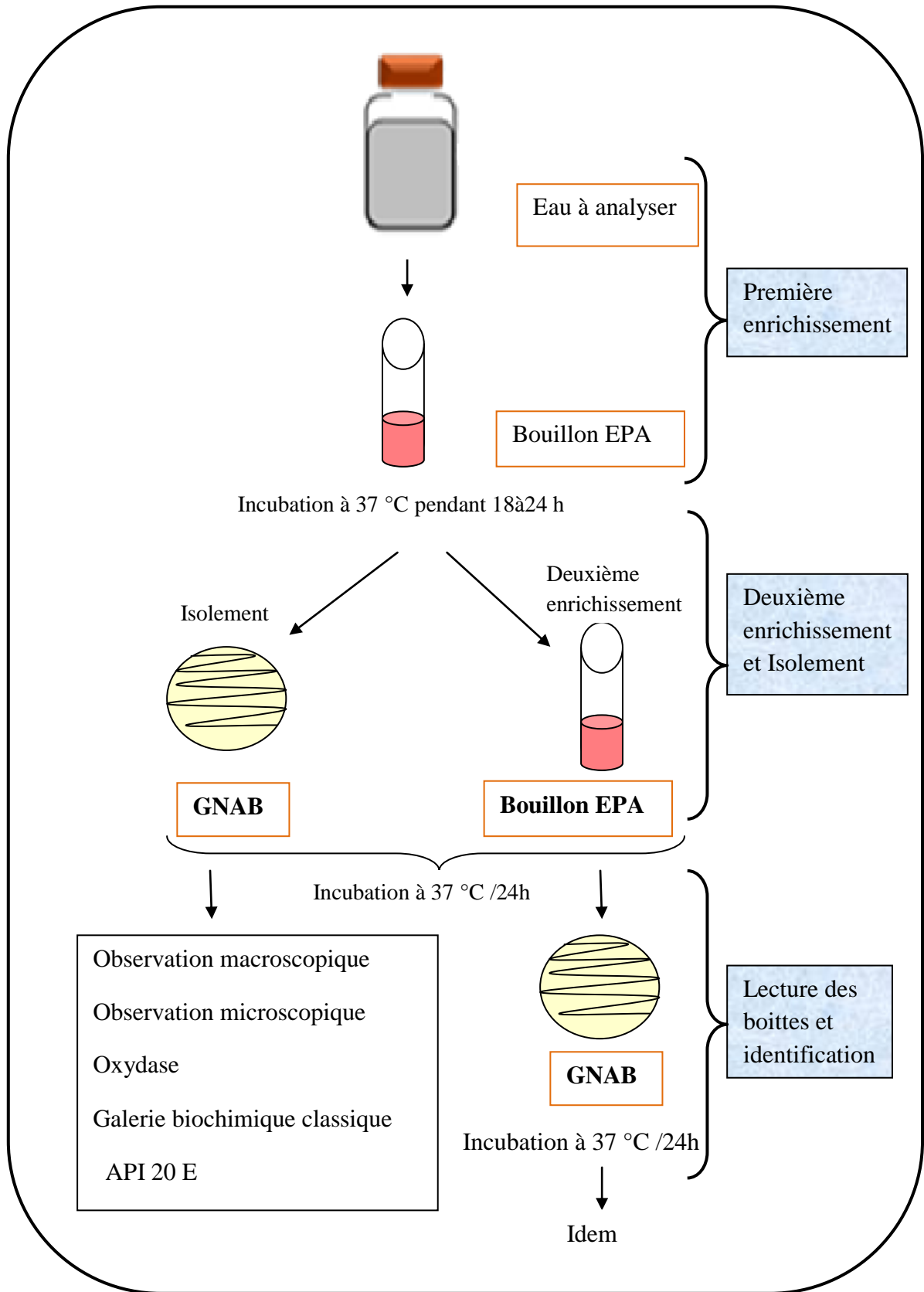


Figure 13 : Protocole de recherche et identification de *Vibrio*

6-L'identification :**6-1-Examen macroscopique des caractères cultureux :**

Observer à l'œil nu ou à l'aide d'un loupe binoculaire les colonies développés sur les milieux gélosés et noter les caractéristiques suivantes :

- La taille : colonies petites (< 1mm), moyennes (1,5 à 3mm), grosses (> 3mm) .
- La forme : bombée, plats, ombiliquée, surélevée.
- Le contour : à bord circulaire, irrégulières et parfois envahissantes, déchiquetées et parfois envahissantes.
- Evaluation de la colonie : convexe, légèrement convexe, plate.
- L'opacité : opaque ; translucide, transparente.
- pigmentation.

6-2-Examen microscopique :

L'examen microscopique peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation direct entre lame et lamelle (technique à l'état frais) ou bien après coloration de l'échantillon ou encore après réaction d'immunofluorescence [Denis et *al.*, 2007].

6-2-1-L'examen direct (Etat frais) :

L'examen microscopique à l'état frais permet d'apprécier à la fois la forme, le mode de regroupement et la mobilité des bactéries isolées.

➤ Technique :

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame propre.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine une fraction de la colonie testée.
- Effectuer une suspension homogène dans la goutte d'eau physiologique en incorporant l'inoculum.
- Recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulle d'air.
- L'observation s'effectue à faible luminosité à l'objectif x10 puis x40 [Lightfoot, 2002].

6-2-2-Coloration de Gram :

La coloration de Gram est qualifiée de coloration différentielle car elle permet dès le début de l'examen bactériologique, de cataloguer les bactéries en deux groupes distincts basés sur des propriétés de coloration : les Gram-positifs et les Gram-négatifs [Hamlaoui et al ,2011], donc aide à l'identification des bactéries.

➤ Les étapes de coloration de Gram sont :

-Réaliser un frottis et le fixer.

- Réaliser une coloration simple au violet de gentiane (ou cristal violet) phéniqué pendant 1 minute.

-Laver la lame à l'eau distillée.

-Ajouter la solution de Lugol et laissé agir pendant 1minute.

- Laver à l'eau distillée.

-Décolorer 20 secondes à l'alcool.

-Rincer immédiatement à l'eau distillée.

-Recolorer avec la safranine (ou la fuchsine) phéniquée pendant 30 secondes.

Laver la lame avec l'eau distillée.

-Sécher la lame en la taponnant avec du papier joseph.

-Observer avec un microscope optique à l'objectif x100 (à l'immersion dans l'huile de cèdre) et à pleine lumière [02].

➤ **Lecture :**

Les bactéries Gram positive (G+) sont bien colorées en violet, et les bactéries Gram négative (G-) sont colorées en rose [Boukrouma, 2008].

6-3-Examen liée aux caractères biochimiques :

Bien que les tests biochimiques constituent une approche classique pour l'identification, il n'en demeure pas moins qu'ils sont particulièrement utiles pour la détermination de certaines espèces et sous-espèces de bactéries [02].

6-3-1-Galerie biochimique classique :**➤ Teste à l'ONPG :**

Ce test est pratiqué pour toute bactérie lactose négatif en 24h .Réaliser une suspension épaisse des bactéries en eau distillée. Ajouter avec une pince flambée et refroidies un disque imprégné d'ONPG .Incuber à 37°C pendant un temps variant entre 15à30 minutes et jusqu'à 24 heures au maximum .Le virage de la couleur du milieu au jaune indique un test positif (ONPG+). Et si milieu reste incolore le test est dit négatif (ONPG-) [Delarras, 2007].

➤ Teste d'indole :

L'indole est le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présent initialement dans le milieu. Seul les bactéries indologènes permettent cette dégradation jusqu'à la formation de l'indole [Khaled, 2009].

Après incubation des tubes inoculés, la présence d'indole est indiquée par l'apparition d'une couleur rouge dans la phase alcoolique du réactif de kovacs, ajouté à raison de 0,5 ml par tube [05].

➤ Recherche d'une uréase :

La recherche de l'uréase consiste à constater l'alcalinisation (formation de carbonate m'ammonium) d'un milieu contenant de l'urée d'où l'utilisation de milieu urée-indole.

Nous réalisons à partir d'une culture sur Hektoen une suspension aussi dense que possible des bactéries à étudier dans 0,5 ml de milieu urée-indole. Nous incubons à 37°C pendant 12à18 heures.

-Uréase positive : virage de l'indicateur du jaune au rouge violacé ou rose rouge.

-Uréase négative : pas de changement de coloration ou virage [Sayad, 2008].

➤ Utilisation de citrate de Simmons :

Pour ce test, nous utilisons le milieu citrate de Simmons, celui-ci contient qu'une seule source de carbone : le citrate. Seule les bactéries possèdent une perméase sont capable de se développer sur ce milieu. Il contient également du phosphore mono-ammoniac servant à la fois source d'azote de phosphore.

L'utilisation du citrate par les bactéries peut faire de façon très diverse, ce qui suivant le cas se traduit par alcalinisation du milieu [Carbonnelle, 1988].

La pente du milieu estensemencée à partir d'une suspension bactérienne ; ou une colonie bien isolée. Le tube est incubé à 37°C pendant 24 h.

-Bactérie citrate positive : culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).

-Bactérie citrate négative : pas de culture (coloration verte du milieu inchangée) [Sayad, 2008].

➤ **La recherche de la TDA :**

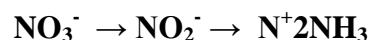
Ensemencer milieu Urée-indole et incubation 24heures à 37°C. Ajouter 2 à 3 gouttes de réactif TDA.

-Réaction positive virage instantané du milieu au rouge brique.

-Réaction négative milieu non changé [Lebers, 2005].

➤ **Le test de réduction du nitrate :**

Ce test permet de détecter si un organisme possède le nitrate réductase qui est une enzyme capable de réduire le nitrate (NO_3^-) en nitrite (NO_2^-) :



Nous avons ensemencé le bouillon nitrate permettant de mettre en évidence, ce caractère par le germe étudié et incubé à 37°C pendant 24heures.

-Après incubation, on ajoute deux gouttes du réactif nitrate réductase I (solution naphthol à 6% dans l'alcool à 60%) et deux gouttes du réactif nitrate réductase II.

-Si milieu devient rose ou rouge, la réaction est dite nitrate réductase positive.

-Si milieu reste incolore, ici on a deux éventualités :

-Ou bien les nitrates ont d'abord été réduits en nitrites mais la réduction s'est poursuivie.

-Ou bien les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites et se trouvent donc dans le bouillon nitrite

Dans ce dernier cas, nous provoquons la réduction chimique en ajoutant de la poudre de zinc, et si la couleur apparaît, la bactérie est dite nitrate réductase négative [Boulekroune, 2008].

➤ **Milieu Mannitol-Mobilité :**

Nous avons ensemencé chaque tube du milieu mannitol par piqûre centrale à partir des milieux d'isolement. Incuber à 37°C pendant 24 heures [Aouissi, 2010].

La mobilité se caractérise par une migration des bactéries de la pique centrale vers le reste du milieu entraînant ainsi une turbidité.

La fermentation du mannitol se traduit par le virage de la couleur rouge du milieu au jaune [Bouchaala, 2010].

➤ **Le milieu TSI ou Triple Sugar Iron :**

Ce milieu est ensemencé avec la souche à étudier en effectuant des stries à la surface de la pente de la gélose puis le culot est ensemencé par pique centrale à l'aide d'une pipette pasteur stérile [Denis et *al.*, 2007]. Incuber à 37°C pendant 24 heures [Abdellioui et *al.*, 2012].

-La lecture de ce milieu est résumée dans le tableau suivant :

Tableau 7 : lecture et interprétation des tests biochimiques du milieu TSI

[Abdellioui et *aL.*, 2012].

	Glucose		Lactose et/ou du saccharose		Production de gaz	Formation d'H ₂ S
Le culot	Rouge	Glucose non fermenté	-		Apparition de gaz dans le culot	Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la pique
	Jaune	Glucose fermenté				
La pente inclinée	-		rouge	Lactose et saccharose non fermentés	-	
			jaune	Lactose et/ou du saccharose fermenté(s)		

➤ **Test au rouge de méthyle (RM) :**

Il permet de mettre en évidence les grandes quantités d'acides produites par les bactéries qui n'empruntent pas la voie Butylène-Glycol. L'acidification importante du milieu est révélée par l'addition d'un indicateur de pH, le rouge de méthyle au milieu où auront poussé les bactéries. Le milieu utilisé est celui de Clark et Lubs.

-La formation d'acides acétiques et formiques en aérobiose : réaction au rouge méthyle [Rodier et *al.*, 2009].

Technique :

On ajoute quelques gouttes du réactif RM à 1ml de milieu de culture ensemencé et incubé.

Lecture :

-Si le milieu prend une coloration rouge, son pH est $<4,4$: la réaction est RM+.

- Si le milieu reste jaune, son pH est 6 : la réaction est RM-

➤ Recherche de l'acétone :

Le milieu clark et lubs permet l'étude de la voie de fermentation du glucose. L'ensemencement se fait largement et l'incubation se fait à une température optimale pendant 24 heures.

➤ Test de catalase :

C'est une enzyme qui décompose l'eau oxygénée en eau et en oxygène gazeux. La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette pasteur fermée que l'on plonge ensuite dans un millilitre d'eau oxygénée. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme [Carbonelle, 1988].

Elle a pour but la classification des bactéries aérobies et plus spécialement la différenciation : chez les cocciformes : les Staphylocoques et les Streptocoques [Rodier et *al.*, 2009].

➤ Recherche de l'oxydase :

Ce teste permet de mettre en évidence l'existence du cytochrome oxydase, enzyme caractéristique d'un métabolisme respiratoire aérobies spécifique de la réduction de l'oxygène moléculaire [Rodier et *al.*, 2009].

Technique :

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer le disque sur une lame porte-objet, l'humidifier avec deux gouttes d'eau distillée stérile et écraser la colonie testée sur le disque. La présence d'une oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration [Carbonelle, 1988].

6-3-2-la galerie biochimique moderne : API 20 E

La galerie API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données [Camille ,2007].

➤ **Principe :**

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs, la lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20 E [Aouissi, 2010].

➤ **Mode opératoire :**

L'opération s'effectuée selon les étapes suivantes :

- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- ✓ Remplir tubes et cupules des tests : |CIT |, |VP |, |GEL|, avec la suspension bactérienne.
- ✓ Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- ✓ Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- ✓ Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37 °C pendant 18-24 heures.

➤ **Lecture :**

-Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées.

-Si le glucose est positif et/ou si 3 tests ou plus sont positif : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

-**Test VP** : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.

-**Test TDA** : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.

-Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kovacs. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20E [Aouissi, 2010]. Ou à l'aide du logiciel d'identification API web.

6-3-3-la galerie API 20 NE :

➤ Principe :

La galerie API 20NE se compose d'une galerie constituée de 20 microtubes contenant milieu et substrats sous forme déshydratée. Elle est utilisée pour l'identification de certains bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux, oxydase positif.

Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

➤ Technique :

Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum :

- Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, de turbidité égale à celle de l'étalon 0,5 Mcfarland.

Inoculation de la galerie :

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG avec la suspension précédente.
- Eviter la formation de bulles.
- Transférer 200 µl (4 à 8 gouttes) de la suspension précédente, dans une ampoule AUX Medium. Homogénéiser.
- Remplir les tubes et cupules des tests GLU à PAC.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests GLU, ADH, URE
- Incuber 24 heures à 30°C.

➤ **Lecture :**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture.

-Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : voir tableau de résultats [Abdellaoui et *al.*, 2012].

➤ **Identification :**

Avec le tableau d'identification :

-Comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau :

Avec le catalogue analytique :

-les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun.

-Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs.

-On obtient un nombre 7 chiffres qui sert de code d'identification [Abdellaoui et *al.*, 2012].

Ou avec un logiciel d'identification API web.

7-L'analyse phytoplanktonique :

Pour Analyse quantitative et qualitative des phytoplanctons les prélèvements sont effectués avec les mêmes fréquences que pour l'étude physico-chimique et bactériologique.

À partir des échantillons d'eau brute fixés au Lugol, un sous échantillonnage de 25 ml a été réalisé après agitation et homogénéisation, on la laisse se sédimer dans une éprouvette graduée pendant 24 h, on garde que 5ml se trouvent en bas et qui présente le sous échantillon, et on se débarrasse du reste, et à partir de cette petite quantité on fait notre analyse quantitative et qualitative en même temps selon La méthode de comptage d'UTERMÖHL (1958).

7-1- Analyse qualitative :

Dans un premier temps les échantillons destinés à la détermination des espèces sont analysés comme suite :

- Après le dépôt des espèces formolées ou lugolées au fond du flacon, un volume de l'eau (20 μ l) est prélevé au fond à l'aide d'une micropipette après homogénéisation. cette eau est déposée entre lame et lamelle, luter la lamelle avec du vernis et observée au microscopes optiques Olympus et Zeiss à l'objectif à immersion (x100) suivant un parcours horizontale sur toute la longueur de la lamelle, cette opération est répétée 3 fois en se décalant nettement sur hauteur de la lamelle, d'environ un champ de microscope, afin d'éviter tout chevauchement.

7-1-1- Identification des espèces :

L'identification des taxons est basée sur l'observation des caractères morphologiques (formes, taille, couleur...) anatomique (disposition des chloroplastes, flagelles...) et à l'aide des clés de détermination [Fott, 1969 ; Bourelly, 1966 ; 1970 ; 1972 ; Pestalozzi et *al.*, 1983 ; John et *al.*, 2001]. (La détermination taxonomique des diatomées a été faite grâce aux travaux d'abord de Sournia (1968), puis de Compere (1991) et de Krammer et Lange-Bertalot (1986-2000).

7-1-2-Diversité globale :

7-1-2-1-Richesse spécifique :

C'est le nombre total des diverses catégories taxonomiques auxquelles appartiennent les organismes prélevés à une station d'échantillonnage. Elle mesure la diversité la plus élémentaire, fondée directement sur le nombre total d'espèces dans un site. Un grand nombre d'espèces fait augmenter la diversité spécifique. Toutefois, cette méthode dépend de la taille des échantillons et ne considère pas l'abondance relative des différentes espèces. Sa valeur écologique est donc limitée [Travers, 1964].

7-1-2-2-Indices de diversité :

De nombreux indices de diversité sont ainsi proposés et permettent de donner une expression qualitative plus ou moins pertinente de la structure de l'écosystème.

Dans cette étude, nous avons utilisé l'indice de Shannon qui considère à la fois l'abondance et la richesse spécifique.

L'indice de Shannon (H) peut se calculer sous deux formes, en utilisant le biovolume et l'effectif spécifique :

$$I_{sh} = -\sum [(ni/N) \times \ln_2 (ni/N)]$$

Avec :

- ❖ n_i = le biovolume ou l'effectif de la $i^{\text{ème}}$ espèce
- ❖ N = le nombre total d'individus dans l'échantillon.

7-2-Analyse quantitative :

7-2-1- Abondance :

En tant que concept écologique, l'abondance est une composante importante de la diversité [Hurlbert 1971].

Suivant le type d'organismes, l'unité de comptage a été soit une cellule, une colonie ou un filament. Dans chaque champ, le nombre d'individus (ou unité de comptage) a été déterminé.

Le comptage de nombre de peuplement phytoplanctonique est fait en même temps que l'identification, avec des balayages de toute la surface de la lamelle.

7-2-2- Estimation de la biomasse phytoplanctonique:

Les échantillons d'eau du (11) ont été filtrés sur un filtre en fibre de verre Whatman GF/F de diamètre 25 mm et 0,7 μ m de maille, à l'aide d'une pompe à vide. Après chaque filtration, le filtre a été immédiatement emballé dans du papier aluminium et conservé au frais (4°C) jusqu'à l'analyse au laboratoire.

Dans cette étude, la biomasse phytoplanctonique a été suivie par dosage de chlorophylle a, selon la méthode spectrophotométrique d'absorption moléculaire [Rodier et *al.*, 2009].



CHAPITRE III

III- Résultats et discussion

1- Résultats des analyses physicochimiques mesurés *in situ* :

1-1-La température :

La température est un facteur écologique très important qui a une grande influence sur les propriétés physico-chimiques des écosystèmes aquatiques. Elle conditionne les possibilités de développement et la durée du cycle biologique des espèces aquatiques [Aberkan et *al.*, 2011].

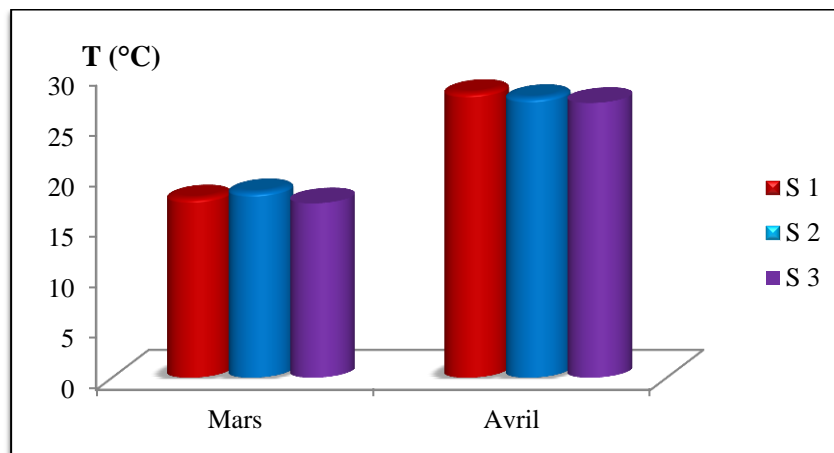


Figure 14 : Variations de la température de l'eau de Lac Tonga.

D'après les résultats (Fig14) la température minimale obtenue est de 17.2°C enregistrée dans la station 3 pendant le mois de Mars. La température maximale est de 28,1°C noté dans la station 1 pendant le mois d'Avril.

Selon la grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température, notre eau est de qualité normale (< 20°C) à Médiocre (25°C - 30°C).

1-2- Le pH :

Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés. Il donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité d'une eau. de point de vue sanitaire, un pH élevé peut provoquer un problème de corrosion alors qu'un pH faible peut modifier le goût de l'eau [Benamira et *al.*, 2012].

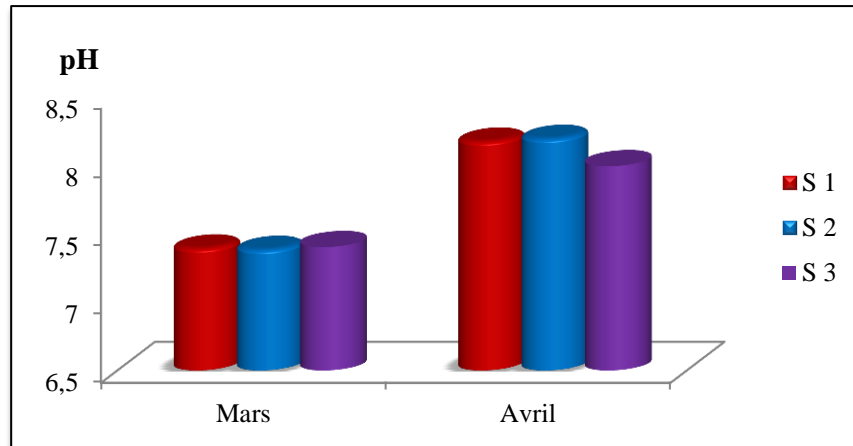


Figure 15 : Variations spatio-temporelles du pH de l'eau de Lac Tonga.

D'après les résultats (Fig15) La valeur de pH la plus faible est de 7.38 mesurée dans la station 1 pendant le mois de Mars et la plus élevée est de 8.19 obtenue dans la station 2 pendant le mois d'Avril. Le pH de l'eau de Lac Tonga est plus au moins neutre ce qui est le cas de la majorité des eaux de surface. Cette gamme de pH favorise la multiplication et la croissance des microorganismes.

1-3-La conductivité électriques :

La mesure de la conductivité permet d'évaluer rapidement mais très approximativement la minéralisation globale de l'eau et d'en suivre l'évolution .D'une façon générales, la conductivité s'élève progressivement de l'amont vers l'aval des cours d'eau [Rodier et *al.*, 2009].

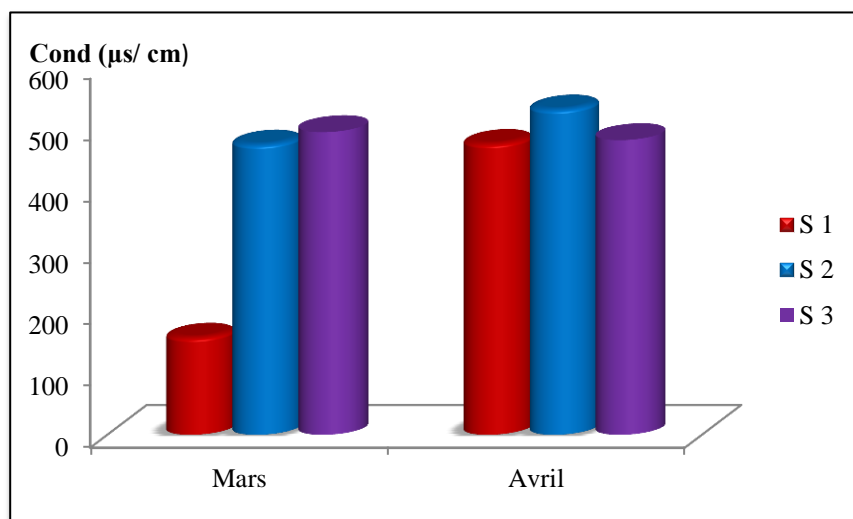


Figure 16: Variations de la conductivité électrique de l'eau de lac Tonga.

D'après la figure 16 La conductivité du l'eau du lac durant les deux mois est varié entre 158,1 et 529 $\mu\text{s}/\text{cm}$, ce qui signifie que l'eau est de bonne qualité selon la grille de appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la conductivité.

1-4- L'oxygène dissous :

L'oxygène dissous mesure la concentration du dioxygène dissous dans l'eau [Rodier ,1984] il participe à la majorité des processus chimiques et biologiques en milieu aquatique.

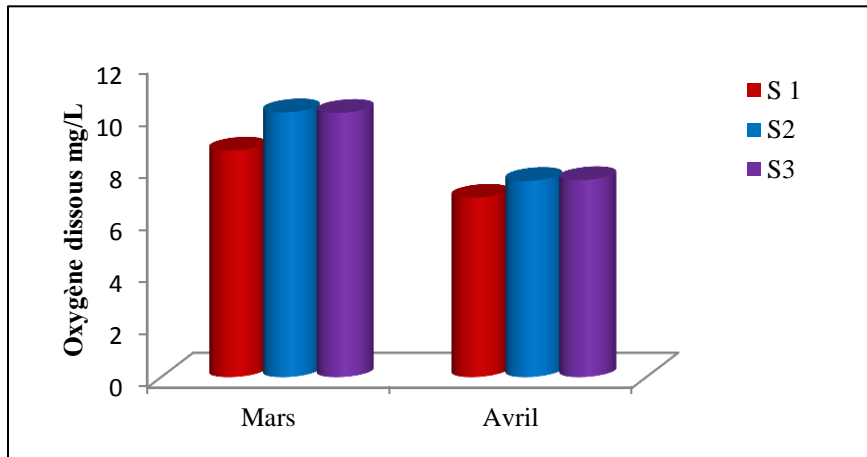


Figure 17: Variations de teneur de l'oxygène dissout de l'eau de lac Tonga.

Selon les résultats enregistrés durant notre période d'étude (Fig17), la teneur de l'oxygène varie entre 7 à 10,12 mg /L durant les deux mois, selon la grille d'appréciation de la qualité des eaux en fonction de l'oxygène dissous, l'eau de cette lac est de qualité normale, alors il est favorable pour le développement des microorganismes.

2- Résultats des analyses bactériologiques :

Une analyse bactériologique comporte d'une part, une analyse quantitative, qui nous donne une numération des germes et d'autre part, une analyse qualitative qui consiste à rechercher tous les germes en présence.

Une eau de qualité, doit être exempte de bactéries pathogènes et de virus. Elle ne doit non plus contenir des «germes tests» de contamination car ceux-ci, bien qu'innocents, signalent la présence de germes pathogènes. Par contre la présence de germes banals est admise dans l'eau [Sayad, 2008].

2-1- Recherches et dénombrement des germes totaux :

La recherche des micro-organismes aérobies non pathogènes dits "revivifiables" permet de dénombrer les bactéries se développant dans des conditions habituelles de culture et représentant la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle.

Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sous certaines conditions, ils peuvent générer des problèmes.

Ce sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique [Abdellioui et *al.*, 2012].

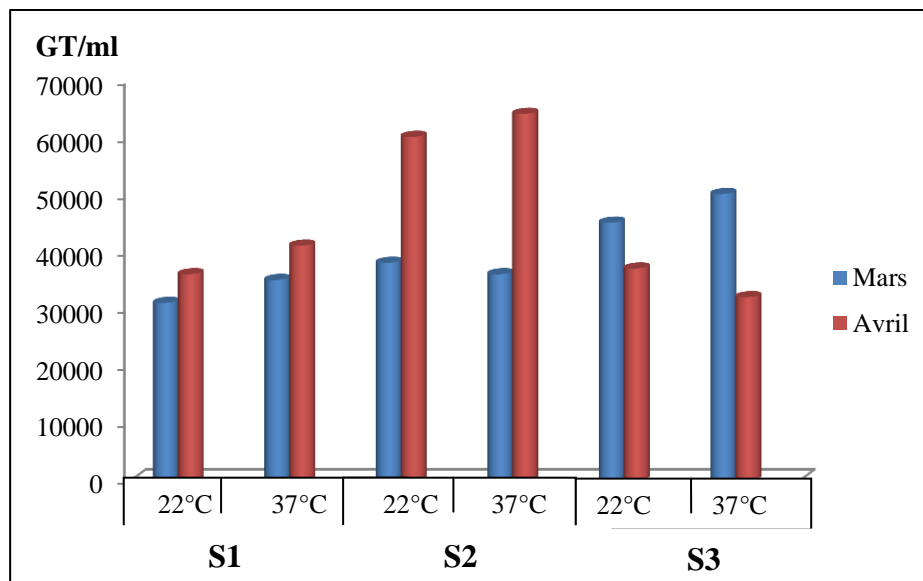


Figure 18 : Evaluations du nombre des germes revivifiables à 22°C et à 37°C de l'eau de Lac Tonga.

Nos résultats (Fig18) ont montrés que le nombre des germes totaux incubés à 22°C en mois d'Avril est plus élevé qu'en mois de Mars dans la station 1et 2, avec un taux maximum de 60000 GT/ml dans la station 2 (en Avril) et un minimum de 31000 GT/ml(en Mars)), par contre dans la station 3 le nombre des germes le plus élevé est enregistré en mois de Mars. et le même chose est observé pour ceux qui ont été incubés à 37°C, cela peut s'expliqué par la diminution et augmentation des chut de pluies.

2-2-Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux :

- **Coliformes totaux :**

Les résultats des dénombrements des coliformes totaux sont illustrés dans les figures ci-dessous.

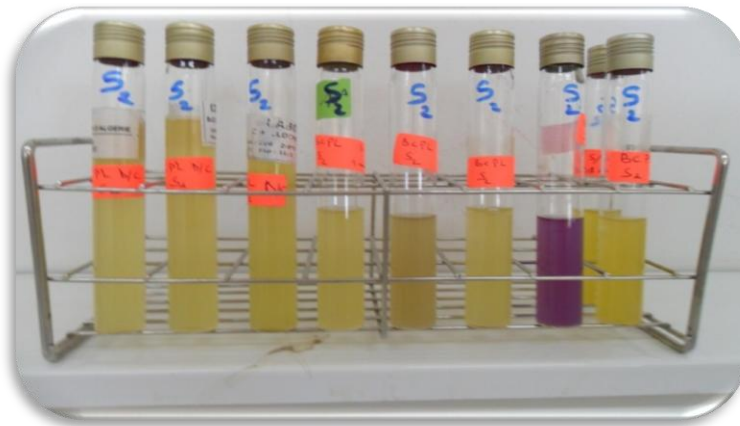


Figure 19: Dénombrement des coliformes totaux dans l'eau de lac Tonga(S2).

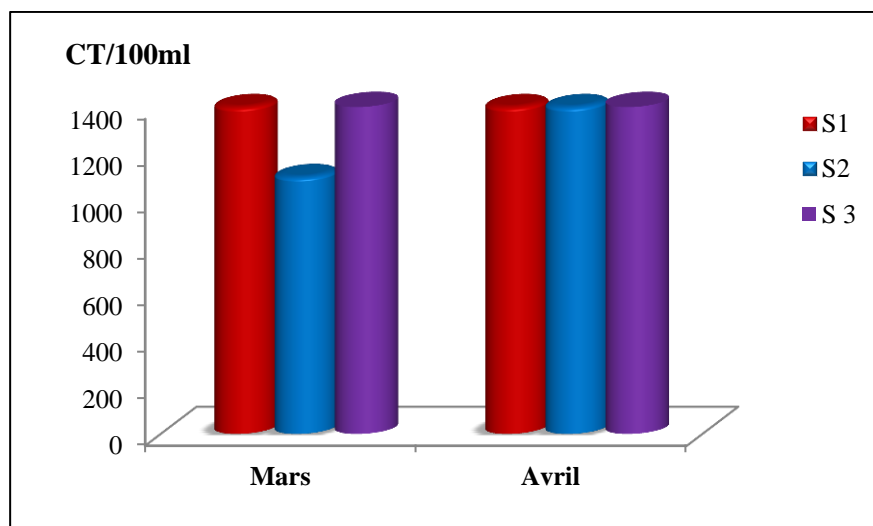


Figure 20 : Estimation des coliformes totaux dans l'eau de lac Tonga.

D'après la figure 20 Les effectifs des coliformes totaux a atteint son maximum en mois de Mars dans les deux stations 1et 3 et dans les trois stations pour le mois de Avril respectivement avec 1400 CT/100 ml, Par contre le minimum est observé dans la station 2 en mois de Mars avec 1100 CT/100 ml.

- **Coliformes fécaux :**

Escherichia coli est le type de coliforme d'habitat fécal exclusif, sa recherche est donc extrêmement importante.



Figure 21: Dénombrement des coliformes fécaux dans l'eau de lac Tonga.

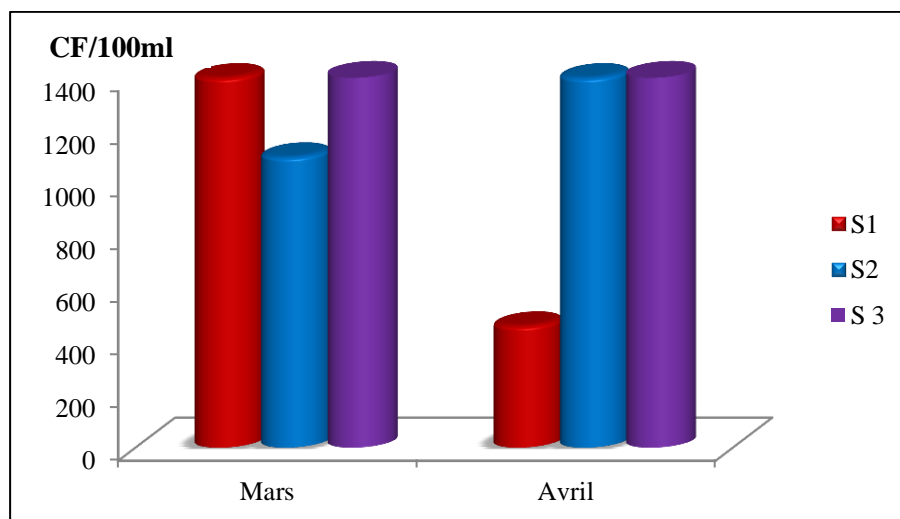


Figure 22: Estimation des coliformes fécaux dans l'eau de lac Tonga.

D'après la figure 22 les effectifs des micro-organismes fécaux, dans les trois stations, a montré une différence significative quantitatif entre les stations 1 et 2 et 3 par un maximum enregistré avec 1400 CF/100 ml en mois de mars dans les stations 1 et 3 et en mois de Avril dans les stations 2 et 3 et un minimum de 1100 CF/100 ml en moi de mars dans la station 2 et 460 CF/100 ml en mois d'avril dans la station 1.

2-3-Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

Les streptocoques fécaux sont des excellents indicateurs de contaminations récentes par la matière fécale des animaux [Rodier et *al.*, 2009].



Figure 23: Dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau de lac Tonga.

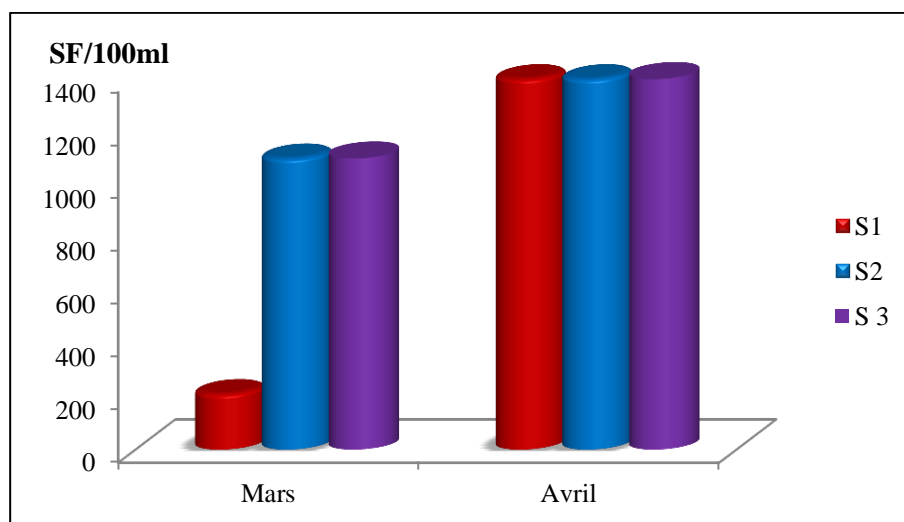


Figure 24 : Estimation des Streptocoques fécaux dans l'eau de lac Tonga.

D'après la figure 24 les effectifs des streptocoques fécaux, dont le maximum dans les stations 2 et 3 avec 1100 SF/100ml en mois de Mars et 1400 SF/100ml dans les trois stations en mois d'Avril et un minimum de 210 SF/100ml dans la station 1 en mois de Mars.

2-4-Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) :

Les anaérobies sulfito-réducteurs sont souvent considérés comme des indices de contamination. La forme sporante beaucoup plus résistante que les formes exclusivement végétatives des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux, permettrait ainsi de déceler une pollution fécale ancienne, bien que l' puisse pas être toujours le cas, car les clostridies sulfito-réductrices avoir une origine tellurique [Aouissi et *al.*, 2007].

Tableau 08: Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR).

Période	Station 1	Station 2	Station 3
Mars	<1 bactérie	<1 bactérie	<1 bactérie
Avril	<1 bactérie	<1 bactérie	<1 bactérie

2-5-Identification des colonies bactériennes:

l'observation macroscopique et microscopique des colonies isolées et une identification biochimique par la galerie biochimique classique, les API systèmes et les tests des galeries classiques [Rodier et *al.*, 2009].

Les résultats sont résumés dans les tableaux et les figures ci-dessous.

2-5-1-Caractères morphologiques et coloration de Gram :

Tableau 09: Aspect macroscopique, microscopique et identification des colonies bactériennes isolées dans l'eau de lac Tonga.

Milieu de Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique
Chapman	-Colonies jaunes entourées d'un halo jaunes, circulaires, bombées, lisses.	- Cocci regroupées en chênnettes, Gram positif.
SS	-Colonies petites, bombées avec centre noire, lisses, muqueuses, circulaires -colonies jaunes petites, bombées, circulaires, muqueuses, et à contours régulier.	-Bacilles isolés, Gram négatif.
Hectoen	-Colonies petites, rougeâtres, circulaires, à contour régulier, bombées, lisses, muqueuses -Colonies petites, pigmentées en vert, circulaires, bombées, lisses à contour régulier. -Colonies petites, bombées, avec centre noire, muqueuses	- Bacilles isolés, Gram négatif -Cocci regroupées en amas, Gram positif. -Bacilles isolés, Gram négatif
Mac conky	-Colonies petites, bleu, circulaires, bombées, lisses.	-Cocci regroupées en amas, Gram négatif.
Cétrimide	- Colonies très petites, bleu-vertes, rondes, muqueuses, lisses et translucides.	-Bacilles à Gram négatif.
GNAB	- Colonies petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes.	-Bâtonnet courte, Gram négatif.
GN	-Colonies bombées, lisses, blanche, à contour régulier -Colonies jaunes, 2mm de diamètre, à contour irrégulier.	-Bacilles Gram négatif

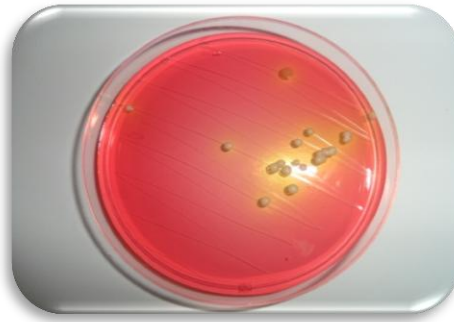


Figure25 : Aspect macroscopique des colonies sur le milieu chapman.



Figure26 : Aspect macroscopique des colonies sur le milieu SS.



Figure27 : Aspect macroscopique des colonies sur le milieu Hectoen.



Figure28: Aspect macroscopique des colonies sur le milieu Mac conky.

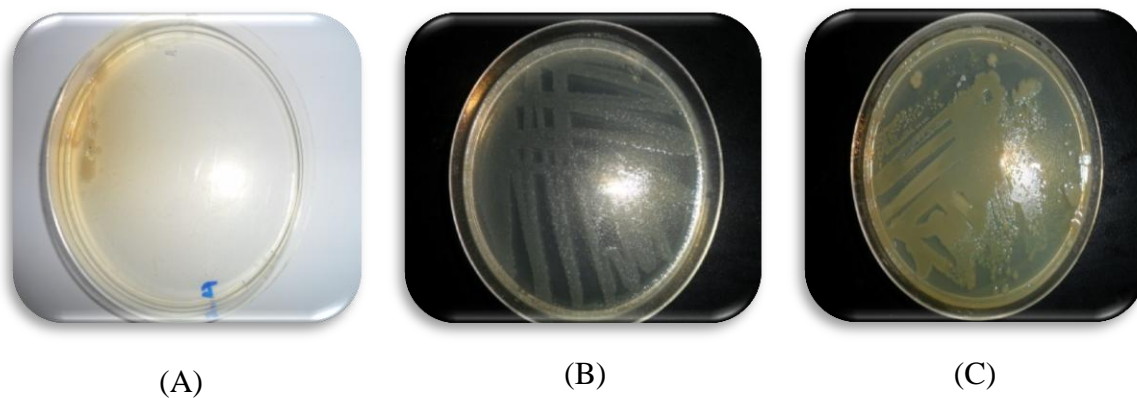
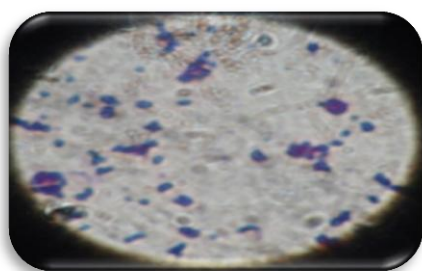
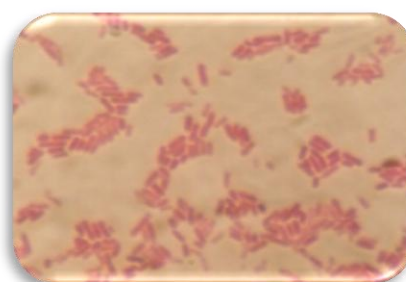


Figure 29: Aspect macroscopique des colonies sur les milieux : A-Cétrimide, B-GNAB et C-GN.



Cocci à Gram positif



Bacilles à Gram négatif

Figure 30 : Détermination des caractères morphologiques

2-5-2-Résultats de l'identification biochimique :

➤ Identification par les API systèmes :

Tableau 10: les espèces identifiées par les API systèmes.

Milieu de culture	API systèmes	Espèces bactériennes identifiées
GN	API20E	<i>Citrobacter braakii</i>
		<i>Enterobacter cloacae</i>
SS	API20E	<i>Salmonella orizonae</i>
		<i>Klebsiella omithinolytica</i>
		<i>Aeromonas hydrophila</i>
		<i>Serratia odorifera</i>
Mac conky	API20E	<i>Enterobacter sakazakii</i>
GNAB	API20NE	<i>Vibrio vulnificus</i>

Figure31 : Profil biochimique de la souche *Citrobacter braakii*.Figure32: Profil biochimique de la souche *Enterobacter cloacae*.Figure33: Profil biochimique de la souche *Salmonella orizonae*



Figure34: Profil biochimique de la souche *Klebsiella omithinolytica*.



Figure35: Profil biochimique de la souche. *Aeromonas hydrophila*.



Figure36: Profil biochimique de la souche *Serratia odorifera*.



Figure 37 : Profil biochimique de la souche *Enterobacter sakazakii*.



Figure 38: Profil biochimique de la souche *Vibrio vulnificus*.

➤ **Identification par la galerie biochimique classique:**

Les espèces bactériennes identifiées par la Galerie biochimique classique sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 11 : les espèces identifiées par la galerie biochimique classique.

Milieu de culture	Espèces bactériennes identifiées
Hectoen	<i>Enterobacter cloacae</i>
Mac conkey	<i>Klebsiella oxytoca</i>

3-Résultats du phytoplancton :

3-1-Analyse qualitative :

3-1-1-Composition spécifiques et structure des communautés phytoplanctonique :

Au cours de notre étude, 27 genres et 35 espèces (Tab12) ont été observées dans les trois stations, regroupant 5 Classes. En terme de nombre d'espèces, les Chrysophycées représentent la classe la plus importante (68,5%), suivie par celle des Chlorophytes (14,2%), les Euglénophytes et les Cyanobactéries forment respectivement 8,5 et 5,7% du nombre total des espèces, tandis que les Pyrrophytes forment la classe la moins représentée soit 2,8%.

Tableau 12 : Classification des espèces phytoplanctonique de lac Tonga.

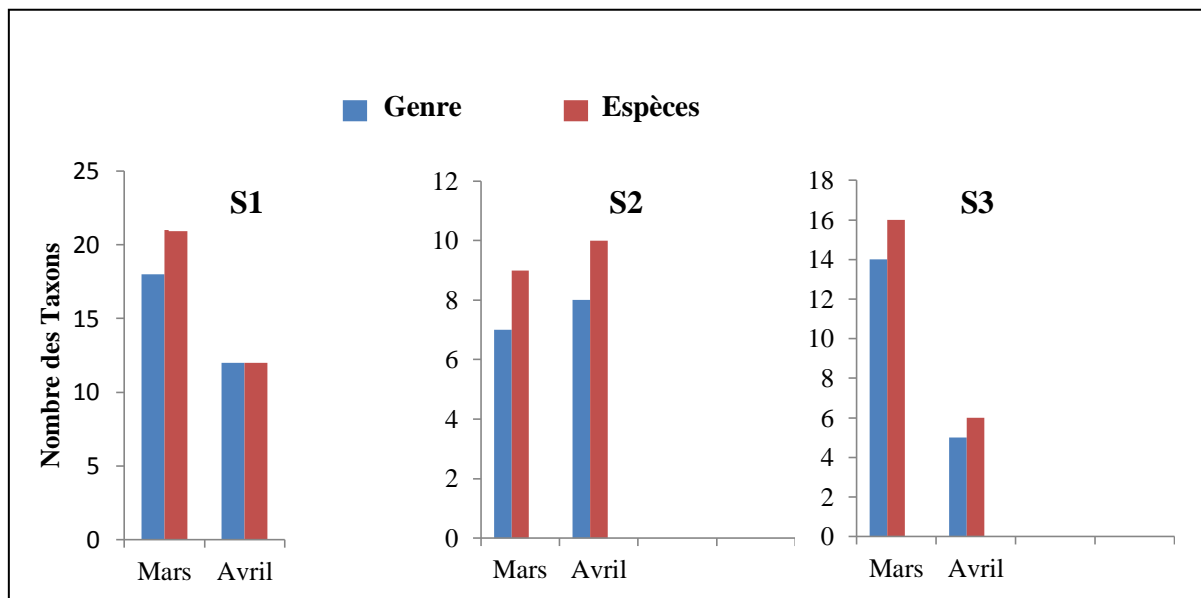
La Famille	Genres	Espèces
Euglenophytes	Trachelomonas	<i>Trachelomonas sp.</i>
	Lepocinclis	<i>Lepocinclis sp</i>
	Euglena	<i>Euglena anabaena</i>
Pyrrophytes	Cryptomonas	<i>Cryptomonas erosa</i>
Chrysophytes	Navicula	<i>Navicula cryptotenella</i>
		<i>Navicula radiosa</i>
		<i>Navicula steckerae</i>
		<i>Navicula vanhoeffenii</i>
		<i>Navicula salinarum</i>
	Cyclotella	<i>Cyclotella comta</i>
		<i>Cyclotella ocellata</i>
	Fragilaria	<i>Fragilaria crotensis</i>
	Meridion	<i>Meridion circulare</i>
	Stauroneis	<i>Stauroneis sp</i>
	Ulnaria	<i>Ulnaria ulna</i>
	Diatoma	<i>Diatoma vulgare</i>
	Pseudo- Nitzschia	<i>Pseudo- Nitzschia seriata</i>
	Cocconeis	<i>Cocconeis placentula</i>
	Gyrosigma	<i>Gyrosigma attenuatum</i>
	Achnanthes	<i>Achnanthes sp</i>
		<i>Achnanthes minutissima</i>
	Nitzschia	<i>Nitzschia longissima</i>
		<i>Nitzschia palea</i>
	Tabellaria	<i>Tabellaria sp</i>
	Surirella	<i>Surirella sp</i>
	Cymbella	<i>Cymbella lanceolata</i>
	Melosira	<i>Melosira ambigua</i>
<i>Melosira granulata</i>		
Cyanobactéries	Chroococcus	<i>Chroococcus turgidus</i>
	Microcystis	<i>Microcystis aeruginosa</i>

Tableau 12 : Classification des espèces phytoplanctonique de lac Tonga (Suite).

Chlorophytes	Dictyosphaerium	<i>Dictyosphaerium sp</i>
	Closterium	<i>Closterium parvulum</i>
	Tetrastrum	<i>Tetrastrum staurogeniaeforme</i>
	Ulothrix	<i>Ulothrix sp</i>
	Reticulatum	<i>Reticulatum</i>

3-1-2-Richesse spécifique :

L'analyse des échantillons révèle que la richesse des phytoplanctons dans le lac pendant le mois de Mars est relativement élevée, par contre cette dernière est en mois d'Avril moins caractérisée, généralement cette variation temporelle est due aux conditions plutôt marines, tel que le vent et la stabilité de colonne d'eau (Fig39).

**Figure 39 :** Evaluations de nombre des espèces et des Genre dans les trois stations.**3-1-3-Richesse spécifique des groupes phytoplanctonique :**

Le phytoplancton du lac Tonga est caractérisé par un nombre d'espèces importante, surtout pour les Chrysophytes une richesse maximale présentée dans les trois stations. Tandis que les Chlorophytes présente une richesse spécifique faible en mois de mars dans les trois stations et une absence en mois d'avril pour les trois stations. Cependant les Cyanobactéries présentent une faible richesse dans la station 1 pendant les deux mois, et absence totale dans les stations 2 et 3. Pour les Euglenophyte et les Pyrrophytes sont présentés dans les trois stations avec une faible richesse (Fig40).

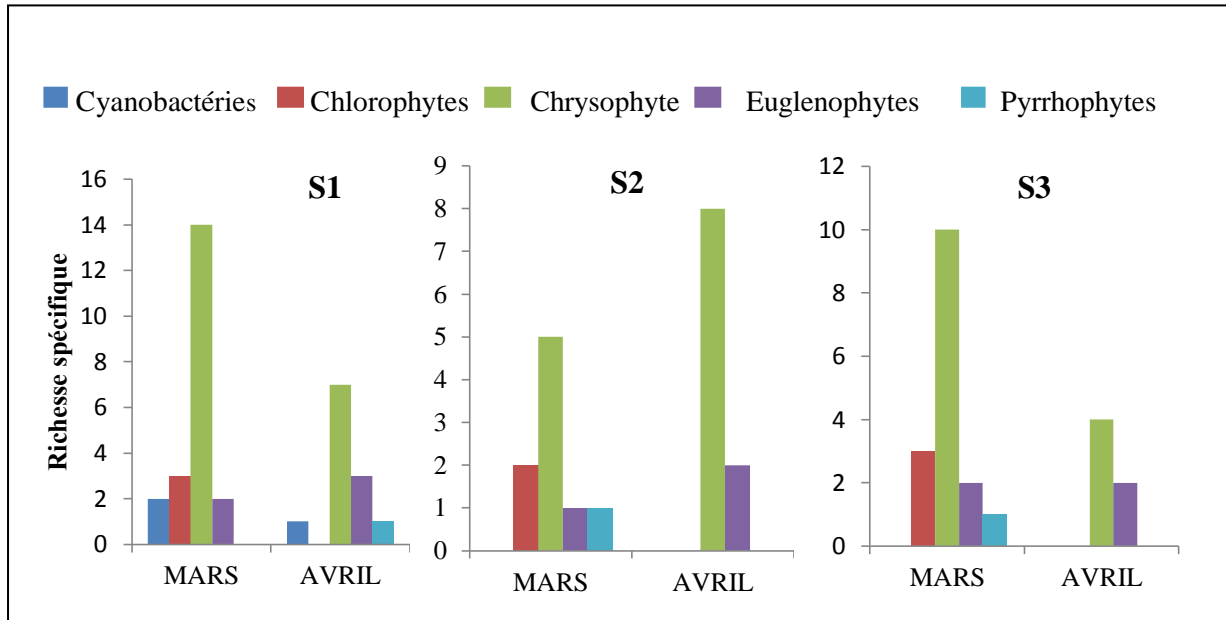


Figure 40: Evolution de la richesse spécifique des groupes de phytoplancton.

3-2-Analyse quantitative :

3-2-1-Abondance globale de phytoplancton :

Les résultats enregistrés pendant notre étude (Fig41), montre que la station 1 caractérisée par une forte abondance au phytoplancton ($3,45 \cdot 10^6$ ind /L en mars et $3,2 \cdot 10^6$ ind /L en avril) Cependant, les autres stations caractérisées par une densité phytoplanctonique connivente et varie entre $0,4$ et $1,6 \cdot 10^6$ ind /L.

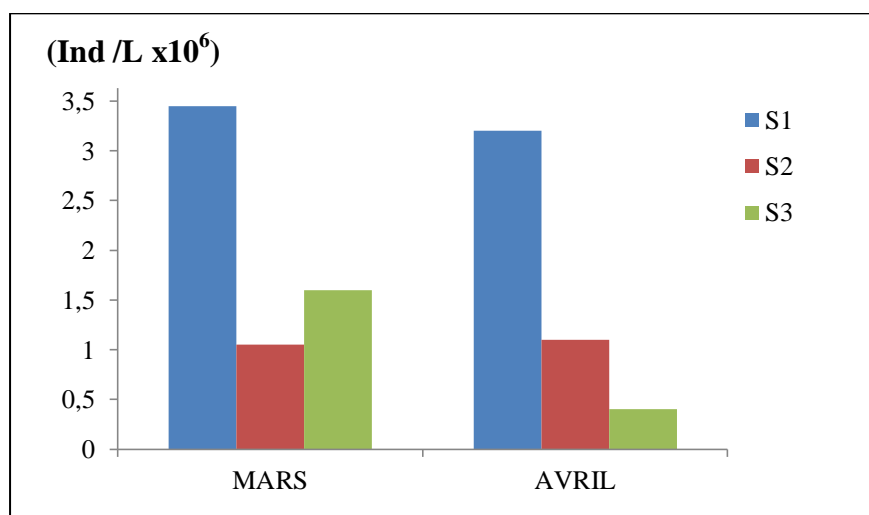


Figure 41 : Variations de l'abondance globale ($\text{ind /L} \times 10^6$) du phytoplancton de lac Tonga pendant les deux mois (Mars et Avril).

3-2-2-Abondance des groupes phytoplanctonique :

Le recensement de l'abondance du phytoplancton montré que la densité le plus élevé est remarquée par la classe des Chrysophytes de $2,9 \cdot 10^6$ ind/L pour les trois stations en mois de mars et pour la station 2 en mois de avril, et en faible densité dans les stations 1 et 3 en moins d'avril. Alors que les autres classes (Cyanobactéries, Chlorophytes, Euglenophytes et Pyrrophytes) certaine présenté avec une densité faible et l'autre caractérisé par une absence totale (Fig42).

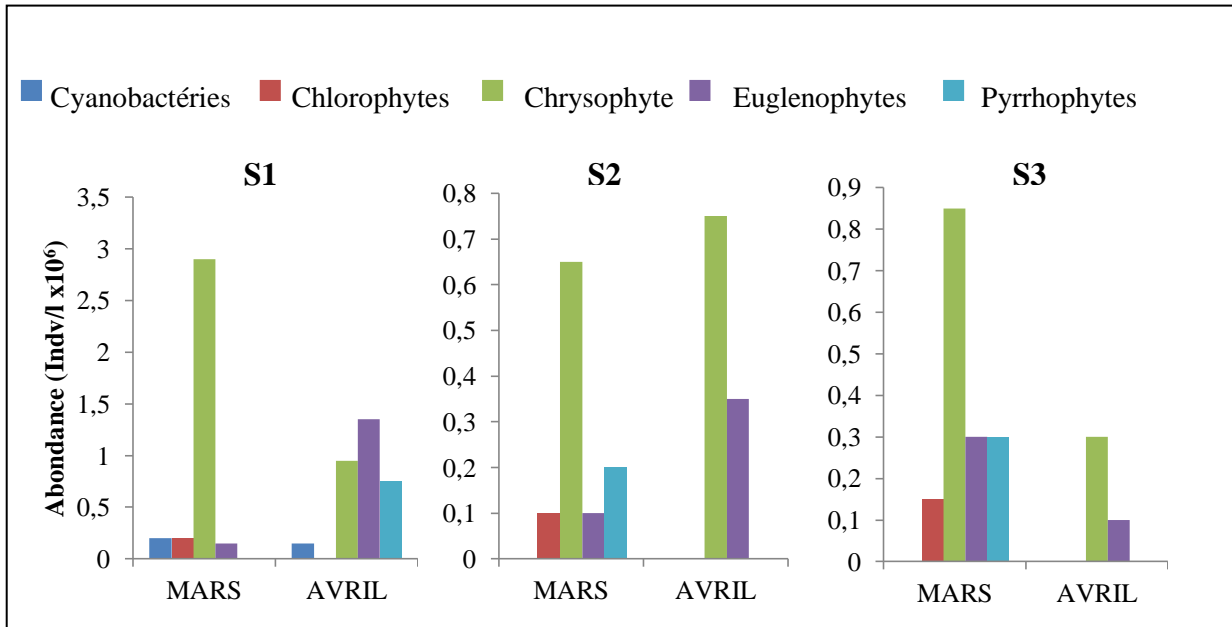


Figure 42 : Evaluation spatio-temporelle de l'abondance des espèces phytoplanctonique.

3-2-3-Diversité des différentes classes :

En tenant compte de l'indice de diversité de Shannon calculé à partir des effectifs, La classe des chrysophytes parmi les 5 est la plus diversifiées (0,955 à 2,090 bits/indv) dans les trois station pendant les deux mois, suivi par les Euglenophytes (0,1639 à 0,78 bits/indv) qui sont diversifiées dans les trois station pendant la mois d'Avril, les Pyrrophytes, les Chlorophytes et les Cyanobactéries sont nettement moins diversifiées (Fig43).

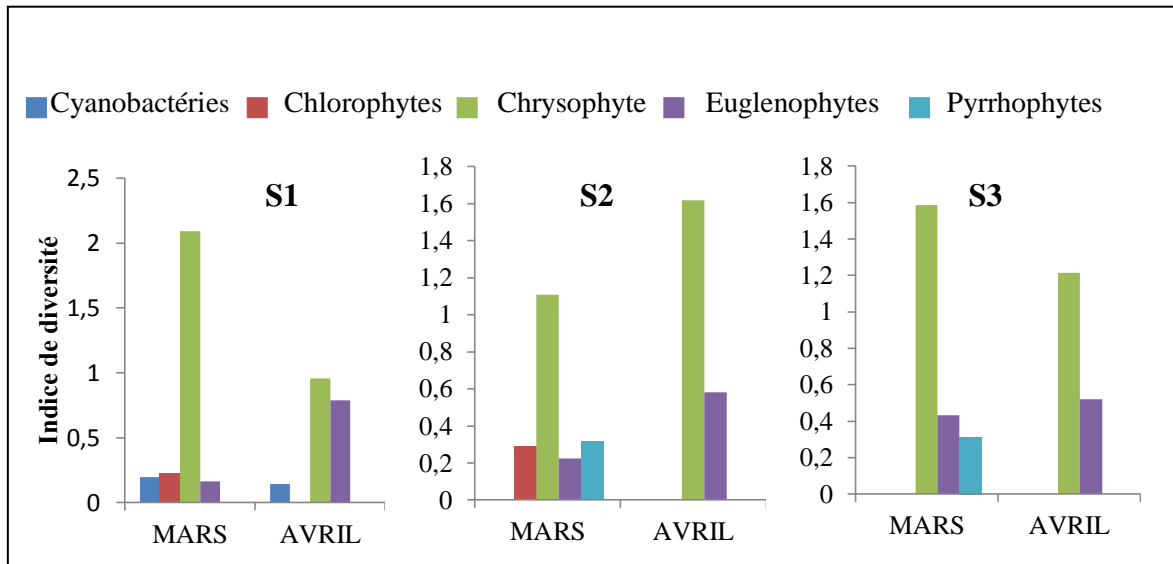


Figure 43 : Evaluation de l'indice de diversité de Shannon aux Stations S1, S2, S3.

3-2-4-La teneur de chlorophylle a (chl a) :

Les variations des teneurs en chlorophylle fournissent une indication globale et intégratrice des réponses de la communauté phytoplanctonique aux fluctuations de son environnement [Quéguiner, 2007]. à savoir la température, l'intensité lumineuse, la dilution aussi que la disponibilité des nutriments.

Les résultats du dosage de la chlorophylle a (Fig44), montrent que les teneurs en ce pigment présentent des variations spatio-temporelle durant notre période d'étude. Au niveau de station 1 la teneur la plus élevée (0,129 $\mu\text{g/l}$) est enregistrée en Mars. et on observe les teneurs est diminuée en mois de Avril, et la teneur la plus faible (0,052 $\mu\text{g/l}$) enregistrée au niveau de station 3 pendant le mois de Avril.

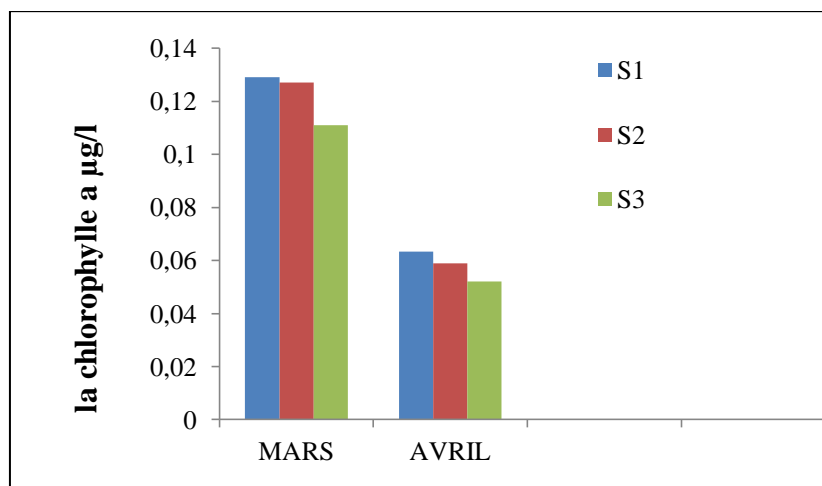


Figure 44: Variation de la teneur de chlorophylle a dans les 3 stations (Mars et Avril).



CONCLUSION

Conclusion

Lac Tonga (36°53' N, 08°31' E) est un lac d'eau douce permanent qui s'étale sur une superficie de 2500ha. Il est caractérisé par sa richesse floristique et faunistique.

Dans ce contexte notre étude a été basée sur l'analyse bactériologique et phytoplanctonique ainsi que quelques paramètres physico-chimiques mesures *in situ* des eaux de Lac Tonga. Cette étude est basée sur le suivi de trois stations, sur une période de deux mois (Mars et Avril) dans le but à déterminer les microflores vivantes.

Les analyses bactériologiques obtenues à travers les dénombrements réalisés ont permis de confirmer la contamination d'origine fécale de ces eaux par la présence d'un nombre élevé d'organismes indicateurs (coliformes fécaux, streptocoques fécaux), ainsi qu'une grande variété de germe pathogènes (Salmonella, Enterobacter, Vibrio, Citrobacter, Klebsiella, Aeromonas).

En ce qui concerne les mesures *in situ* on constate que la qualité d'eau de ce lac est bonne à moyenne.

Pour les analyses phytoplanctonique la communauté varie considérablement à la fois dans sa densité et dans sa composition, influencée par beaucoup des paramètres.

Le phytoplancton, qui est un maillon très influant dans les bassins de stabilisation, a fait l'objet d'étude qualitative et quantitative. 35 taxons ont été répertoriés sur toute la période d'étude. Il a été observé une forte présence des Chrysophytes suivi par celle des Euglenophytes, les Chlorophytes, les Pyrrhophytes. Alors que les Cyanobactéries sont moins représentées. Nos données ont permis de constater qu'il existe une forte homogénéité spatiale dans le lac.

Du point de vue nature de germes isolés et quantités de microorganismes, nous pouvons conclure que l'eau de ce Lac est fortement polluée. Ce qui peut engendrer des nuisances importantes que ce soit pour, les poissons pêchés, et les pêcheurs.

Les écosystèmes aquatiques du parc national d'EL Kala sont très peu étudiés et constituent ainsi un grand terrain pour les chercheurs dans différents domaines et par conséquent beaucoup d'études peuvent être faites notamment :

- Etude microbiologique au niveau de l'interface eau-sédiment et dans le sédiment.
- Etude sur les macrophytes et les épiphytes.
- Etude sur le zooplancton ainsi que les protozoaires.
- Analyse chimique de l'eau (facteurs biotiques et abiotiques)
- Etude sur les Cyanobactéries (Blooms, Espèces, Cyanotoxines)
- Il est nécessaire d'accroître la fréquence d'échantillonnage pendant les périodes de prolifération du phytoplancton.
- Etude des interactions entre les différents maillons de la chaîne trophique pour bien comprendre le fonctionnement des systèmes aquatiques.
- Recherche de bactéries autochtones et des bactéries pathogènes dans la colonne d'eau et dans le sédiment.
- Etude spatio-temporelle du phytoplancton en période estivale.

Résumé

Le Lac Tonga situé dans le parc national d'El-Kala (Région nord-est de l'Algérie), Considérée comme un grand site de Ramsar en Algérie. De profondeur moins 6 m, constitué d'un réservoir naturel d'eau douce, pour déterminer la qualité bactériologique, la qualité phytoplantonique et quelques paramètres physicochimiques de l'eau de cette Lac, on a effectué des analyses mensuelles sur trois stations (de Mars à Avril 2014).

Les paramètres physicochimiques mesurée *in situ* (température, pH, conductivité, et l'oxygène dissous) permet de conclure que cette lac est favorable pour la survie et le développement des microorganismes.

Les résultats des analyses bactériologique montraient une présence des bactéries indicatrice de contamination fécale (les coliformes fécaux, les Streptocoques), et des certaines bactéries pathogènes (*Salmonella*, *Vibrio*...). Les sources principales de cette contamination sont les déchets et les déjections d'origine animales ou humaines.

La composition et la biomasse du phytoplancton sont composées principalement par des Chrysophytes (*Cyclotella*, *Navicula*) des Euglenophytes (*Lepocinclis*, *Euglena*), les Chlorophytes (*Ulothrix sp*, *Reticulatum sp*), les Pyrrophytes (*Cryptomonas erosa*), et dans une moindre mesure les Cyanoobactéries (*Chroococcus*, *Microcystis*). La densité de ce peuplement phytoplantonique varie entre 0,4 à $3,45 \times 10^6$ indv/L. avec une biomasse chlorophyllienne variant entre (0,052 à 0,129 $\mu\text{g/L}$) qui est plus caractéristique pendant le mois de Mars.

Mots clés : Qualité bactériologique, Phytoplancton, Composition spécifique, Abondance, Biomasse chlorophyllienne, Lac Tonga, Algérie.

Abstract

Tonga Lake located in El Kala's National Park (North East of Algeria) Considered as a Ramsar big site in Algeria. With a depth less than 6 m, comprising a natural reservoir of fresh water, to determine bacteriological quality, phytoplankton quality and some physicochemical parameters of the water of this lake, we have done monthly analysis at three stations (March-April 2014).

Physicochemical parameters measured *in situ* (temperature, pH, conductivity, and dissolved oxygen) allow us to conclude that these parameters are favorable for the lake survival and growth of microorganisms.

The result of bacteriological analyzes showed, a presence of fecal contamination indicator bacteria (fecal coliforms, streptococci) and some pathogenic bacteria (Salmonella, Vibrio ...).The main sources of this contamination are wastes and manures from animal or human origin.

The composition and the biomass of phytoplankton are composed mainly by Chrysophytes (Cyclotella, Navicula), by Euglenophyta (Lepocinclis, Euglena), by Chlorophyta (*Ulothrix sp* , *Reticulatum sp*), the Pyrrophytes (*Cryptomonas erosa*), and to a lesser extent by Cyanoobacteria (Chroococcus, Microcystis). The density of the phytoplankton population varies from 0.4 to 3, 45 x10⁶ indiv / L, with chlorophyll biomass varying between (0, 052 to 0.129 µg / L) that is most characteristic during the month of March.

Keywords: Bacteriological quality, Phytoplankton, Specific composition, Abundance, Chlorophyll biomass, Tonga Lake, Algeria.

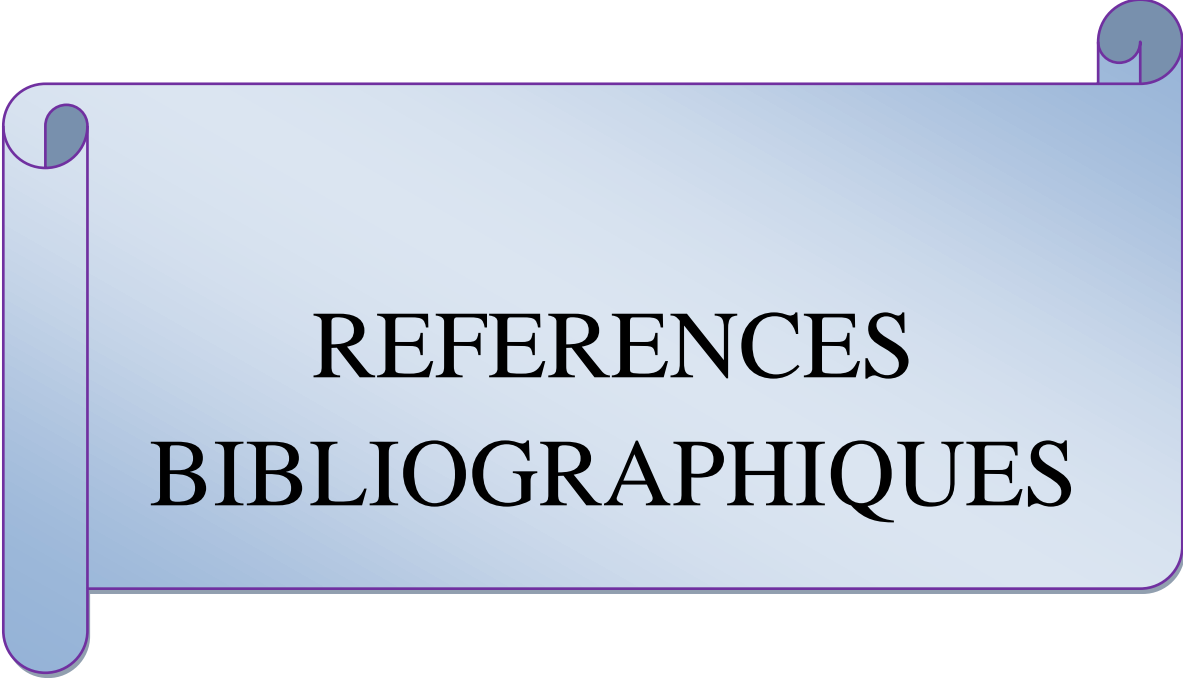
الملخص

تناولت هذه الدراسة النوعية البكتيريولوجية وتركيبية العوالق النباتية في بحيرة طونفا الواقعة في الحظيرة الوطنية للقاللة (شمال شرق الجزائر). حيث أخذت العينات بين شهري مارس وأفريل 2014. كما تم قياس بعض العوامل الفيزيوكيميائية لمياه البحيرة من أجل معرفة مدى تأثيرها على الكائنات المجهرية محل الدراسة.

الخصائص الفيزيوكيميائية المقاسة في الموقع (درجة الحرارة، درجة الحموضة، الناقلية الكهربائية، والأكسجين الذائب) تغيراتها فصلية وتبين لنا أن هذا الماء ملائم لنمو الكائنات الحية المجهرية. كشفت نتائج التحليل البكتيريولوجية عن تراكيز مرتفعة للقولونيات و العقديات البرازية بالإضافة للعديد من البكتيريا الممرضة مثل جنس *Salmonella* و *Vibrio* وغيرها، وهي ذات مصدر حيواني بالدرجة الأولى.

كما تم جرد وتصنيف 36 نوعا من العوالق النباتية موزعة على 5 شعب، هذه التركيبة تسودها شعبة الـ *Chrysophytes* من حيث الكثافة والتنوع ثم تليها *Euglenophytes* ، *Chlorophytes* ، *Pyrrhophytes* وبأعداد اقل الـ *Cyanobactéries*. وتراوحت كثافة هذه الطحالب بين $0,4 \cdot 10^6$ و $3,45 \cdot 10^6$ فرد/ل. أما الكتلة الحيوية للكوروفيل فقد تراوحت بين 0,052 و 0,129 ميكروغرام / ل و كانت أكثر تميزا في شهر مارس.

الكلمات المفتاحية: النوعية البكتيريولوجية، العوالق النباتية، الكثافة، الكتلة الحيوية للكوروفيل، بحيرة طونفا، الجزائر.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABDELLIOUI S., BOUKHDIM A., HAMZAOUI H., (2012). Qualité microbiologique d'un écosystème lotique Cas de l'Oued El Kebir Ouest (Skikda, Nord-Est Algérien). Mémoire de Master. Université 08 Mai 1945 Guelma.

ABELIOVICH A. & WEISMAN D., (1978). Role of heterotrophic nutrition in growth of algae *Scenedesmus obliquus* in high rate oxidation ponds, *Appl. and environ. Microbiol.* 35: 32-37.

ABERKAN M., HARKAT R., MKHALFI M., (2011). Evaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux d'un écosystème lacustre cas de Garaet Hadj Tahar (Skikda). Mémoire de Master. Université 08 Mai 1945 Guelma.

ADJAMI Y., (2006). Etude des facteurs de dépérissement dans la subraie d'El-Kala (Nord-Est Algérien) cas de la suberaie d'El Mallah.

AIT MOULOUD S., (2011). Biodiversité et distribution des collemboles dans l'écotone eau-sol forstier dans la mare d'Aghrib et dans la tourbière d'El Kala. Thèse de magister, Université mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 19 p.

AMBLARD C., BOISSON J.C., BOURDIER D., FONTVIELLE D., GAYTE X. & SIM-NGANDO T., (1998). Ecologie microbienne en milieu aquatique : des virus aux protozoaires *Rev. Sci. Eau*, n° spécial. 145-162

ANONYME., (1996). La wilaya d'el Tarf vous invite à découvrir ses sites merveilleux. Direction de tourisme et de l'artisanat de la wilaya d'el-Tarf. 10 p.

ANRH, (2001). Agence Nationale des Ressources Hydriques: Grille de qualité des eaux de surface.

AOUISSI A., (2010). Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord- Est de l'Algérie), Mémoire de magister en hydro-écologie, Université 8Mai 1945 de Guelma, 141p.

AOUISSI A., FOUZARI A., MEZIANE N., (2007). Qualité bactériologique de l'eau d'oued Seybouse. Mémoire d'ingénieur. Université 08 Mai 1945 Guelma. 57 p.

ARIANE C., (2009). Abaissement artificiel de la thermocline d'un Lac: effets sur le plancton. Université du Québec à Montréal.

AVRIL J. L., DABERNAT H., DENIS F., MONTIEL H., (1992). Bactériologie clinique. 2^{ème} édition. Ellipses. Paris. 522p.

AZAM, F., ET MALFATTI, F., (2007). Microbial Structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology.* 5: 782-791.

BECKER E. W., (1983). Limitations of heavy metal removal from waste water by means of algae. *Wat. Res.* 17(4): 459-466

BEHRENFELD, M. J., RANDERSON, J.T., MCCLAIN, C.R., FELDMAN, G.C., LOS, S.O., TUCKER, C.J., FALKOWSKI, P.G., FIELD, C.B., FROUIN, R., ESAIAS, W.E., KOLBER, D.D ET POLLACK, N.H. 2001. Biospheric primary production during an ENSO transition. *Science*. 291: 2594–2597.

BENAMIRA M, HALASSI I., (2012). Evaluation de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau du lac souterrain: Bir Osman hammam Dabagh-Guelma. Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 de Guelma, 60p.

BNEF ; bureau national d'études forestiers (1979).

BOUCHAALA L, (2010). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de l'Oued-Zénati (Guelma), Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 de Guelma, 137p.

BOUCHAAR S., (2006) .Les Cyanobactéries dans le Lac tonga. Pathologie des écosystèmes. Université Badji Mokhtar, Annaba, 18p.

BOUKROUMA N., (2008). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel : cas de la retenue collinaire d'Ain Fakroune(Wilaya d'Oum el Bouaghi). Mémoire de Magister. Université 08 Mai 1945 Guelma. 64 p.

BOUMEZBEUR A., (1990). Contribution à la connaissance des Anatiidés nicheurs en Algérie (cas du Lac Tonga et du Lac Oiseaux). Mémoire de D.E.A. USTL. Montpellier.

BOUMEZBEUR A., (1993) .Ecologie et biologie de la reproduction de l'Erismature à tête blanche (*Oxyra leucocephala*) et du fuligule nyroca (*Fuligula nyroca*) sur le Lac Tonga et le Lac des Oiseaux) Est algérien. Thèse doctorat USTL. Montpellier.250p.Apria, 331p.

BOURELLY P., (1966). Les algues d'eau douce : les algues vertes, éd. N.Boubée, 1 572 p.

BOURELLY P., (1970). Algues d'eau douce ; Initiation à la systématique. Tome III : Les Algues bleues et rouges, les Eugléniens, Peridiniens et Cryptomonadines. Edition N.Boubée & Cie, 572 p.

BOURELLY P., (1972). Les Algues d'eau douce ; Initiation à la systématique. Tome I : Les Algues vertes. Edition N.Boubée & Cie, 512 p.

BOURELLY, P., (1985).Les algues d'eau douce: Initiation à la systématique. Tome I: Les algues bleues et rouges. Les Eugléniens, Péridiniens et Cryptomonadines. Société nouvelle des éditions Boubée, Paris

CAMILLE D., (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier : Tec & Doc. Paris. 463 p.

CAMILLE D., TREBAOL B., (2003). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Réglementation, prélèvements, Analyses. Lavoisier Masson. 594 p.

- CARBONNELLE D. KOUYOUMDJIAN S., (1988).** Bactériologie médicale technique usuelles. Méd .Mal.Inf. 251 p.
- CHISHOLM, S.W., (1995).**The iron hypothesis: Basic research meets environmental policy.Reviews of Geophysics. 33: 95RG00743.
- CHORUS, I., BARTRAM, J., (1999).** Toxic Cyanobacteria in Water: a Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management. E & FN Spon: London. 416p.
- COMPERE P., (1991).** Contribution à l'étude des algues du Sénégal. Algues du lac de Guiers et du Bas Sénégal. Bulletin du jardin botanique national de Belgique, **61** : 171-267.
- DAUTA A. & FEUILLADE J., (1995).** Croissance et dynamique des populations algales. In : Limnologie générale. R. Pourriot et M. Meybeck. Paris, Masson; Coll. Ecol. (25) : 328-350.
- DEKAYIR S., (2007).** Gestion, récupération et valorisation de la biomasse produite dans une filière d'épuration des eaux usées par Chenal Algal à Haut Rendement, Thèse de doctorat, Université de Liège, Belgique, 184p.
- DELARRAS., (2007).**Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle, sanitaire, TEC & DOC, Paris, 159 p.
- DELARRAS C, ET TREBAOL B ., (2008).**Surveillance sanitaire et microbiologie des eaux : Réglementation-Prélèvement-Analyse. Paris : TEC &DOC .269 p.
- DENIS F., PLOY M. C., MARTIN C., BINGEN E., QUENTIN R., (2007).** Bactériologie médicale : techniques usuelles. Elsevier Masson. 594 p.
- DE REVIERS B., (2003).** Biologie et phylogénie des algues. Belin, Paris. Collection Sup,Sciences. Tome 2: 255p.
- ERGASHEVA. E. & TAJIEVS. H., (1986) .**Seasonal variation of phytoplankton in series of waste treatment lagoons (Chmkent, Central Asia); artificial inoculation and role of algae in sewage purification. Int. Res. Der. Ges. Hydrobiol. 17 (4): 545-555.
- FOTT B., (1969).** Studies in Phycology, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- GHALMI, R., (1997).** Étude préliminaire du régime alimentaire de la loutre (Lutra lutra) dans le nord-est algérien (Parc National d'El Kala). Mémoire D.E.S, Université de liège, 57p
- GHERABA A ., (2012) .** Qualité physico-chimique et bactériologique des eaux des puits en milieu rural en Algérie : cas de la région de Hammam N'Bails (Guelma). Mémoire Master, Université 8Mai 1945 Guelma. 1 p.
- GUIRAUD J. P., (1998).** Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. France. 651 p.
- HADRI M., (2011).** Etude de la qualité bactériologique et physicochimique du Lac tonga.mémoire de Master. Université de Guelma.

HAKMI A., (2002). Traitement des eaux « analyse de l'eau de source bousfer ORAN », Université des sciences et de la technologie Oran, 71p.

HAMED M., GUETTACHE A., BOUAMAR L., (2012). Etude des propriétés physicochimiques et bactériologique de l'eau de barrage DJORF-TORBA Bechar. Thèse de Doctorat. Université de Bechar.p 1, 2, 42,42,

HAMID SAAB, NADINE NASSIF, ANTIONE G.EL SAMRANI, ROSSETTE DAOUD SAMIR MEDAWAR, NAIML OUAINI, suivi de la qualité bactériologique des eaux de surface, Laboratoire de Microbiologie, BP 446, Jounief, Liban ; Revue des Sciences de l'Eau 20(4) (2007) 341-352.

HAMLAOUI B .BEHAILIL M., LARAISSIA H., (2011). Qualité bactériologique et physico-chimique des eaux de sources de la région de Guelma, Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 de Guelma.

HIDOUCI S., (2009). Qualité bactériologique des eaux du golf d'Annaba. Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. 132 p.

HUMENIKF.,J. & HANNA G.P., (1971).Algal-bacterial symbiosis for removal and Conservation of wastewater nutrients, J.W.P.C.F., 43 (4): 580-594.

HURLBERT S. H., (1971). The non-concept of species diversity: A critique and alternative parameters. Ecology, **52**: 577-586.

JEAN-CLAUDE DRUART ET FREDERIC RIMET. Protocoles d'analyse du phytoplancton de l'INRA : prélèvement, dénombrement et biovolumes. INRA-Thonon, Rapport SHL 283 - 2008, 96 p.

JOHN D.M., WHITTON B.A. & BROOK A.J., (2001).The Freshwater Algal Flora of the British Isles, An identification Guide to freshwater and terrestrial algae, Cambridge University Press, 710p.

KADID Y. (1989).Contribution à l'étude de la végétation aquatique du Lac Tonga. Parc National d'El-kala. Thèse ingénieur agronome. INA. Alger 106p.

KHALED A., MEPARKI K., (2009).Qualité Physico-chimique Et microbiologique Des deux écosystèmes aquatique des Nord-Est de L'Algérie cas de lac des Oiseaux (EL TAREF) et de Garaet hadj Taher (SKIKDA) et isolement de Bdellovibrio bacteriovorus, Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 de Guelma, 67p.

KIRCHMAN D.L., SUZUKI Y., GARSIDE C. & DUCKLOW H., (1991).High tum over rates of dissolved organic carbon during a spring phytoplankton bloom. Nature, 352: 612-614.

KRAMMER K. & LANGE-BERTALOT H., (1986-2000). Bacillariophyceae. In: Susswasserflora von Mitteleuropa (Ettl H., Gerloff J., Heynig H. & Mollenhauer D., eds). Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, 1-5.

- KALISZ L., (1973).** Role of algae in sewage purification .II. Nutrient removal, Pol. Arch. Hydrobiol. 20(3): 413-434.
- LABRES E., (2002).** Cours national d'hygiène et des microbiologies des aliments «Microbiologie des eaux, des boissons et des produits de la mer». Institut Pasteur d'Algérie. 34 p.
- LABRES E., MOUFFOK F., (2008).** Les cours national d'hygiènes et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratiques des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. Algérie. 53 p.
- LEBERS E., (2005).** Manuel des travaux pratique : analyse des eaux .Institut Pasteur
- LANDSCAP AMENAGEMENT., (1998).** Plan directeur de gestion du Parc National d'El-Kala et du complexe des zones humides. Agence nationale pour la conservation de la nature Algérie 234p.
- LIGHTFOOT N. F., (2002).** Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau. Directive pour l'assurance qualité. France. 387p.
- MARAD D., (1980).** Sewage treatment in hot climates, Ed. John Wiley and Sons. 168p.
- MEBARKI W., (2006).** Contribution à l'étude de certaines propriétés physico-chimiques des eaux des Lacs Tonga et Obeira (nord-est algérien). Mémoire fin d'étude. Université Badji Mokhtar, Annaba, 143 p.
- MERZOUG S.E. (2009).** Etude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de l'écosystème lacustre Garaet Hadj-Taher (Benazzouz, wilaya de Skikda). Mémoire de Magister, Université 8 Mai 1945 de Guelma, 119p.
- OUDDRA B., (1987).** Recherche d'une optimisation des méthodes d'étude de la biomasse algale dans les bassins expérimentaux de lagunage à Marrakech, Mémoire de CEA, Université Cadi Ayyad, Marrakech.
- OUDDRA B., (1990).** Bassins de stabilisation anaérobie et aérobie facultatif pour le traitement des eaux usées à Marrakech : Dynamique du phytoplancton (Microplancton et Picoplancton) et évaluation de la biomasse primaire. Thèse de 3ème cycle, Université. Cadi Ayyad, Marrakech. 124p.
- OZENDA P., (1982).** Les végétaux dans la biosphère. Doin. Paris, 431 p
- PARHAD N. M. & RAO N. U., (1974).** Effect of pH on survival of Escherichia coli. J. Water Poll. Control. Fed., 46: 980-986.
- PEARSON H.W., MARA D. D., MILLS S. W. & SMALLMAN D.L., (1987).** Factors determining algal population in waste stabilization ponds and the influence of algae on pond performance. Wat. Sci. Tech. 19 (12): 131-140.

PESTALOZZI G.H., KOMAREK TREBON J. & FOTT B., (1983). Das Phytoplankton des Süßwassers, Systematik und Biologie, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

PILET C., BOURDON J. L., TOMA B., MARCHAL N., BALBASTRE C., PERSON J. M., (1987). Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne. Doin. France. 371 p.

POULIOT Y. & DELANOUE J., (1985). Mise au point d'une installation pilote d'épuration tertiaire des eaux usées par production de microalgues. Rev. Franç. Des sci. De l'eau, 4: 207-222.

QUEGUINER B., (2007). Structure et Fonctionnement des Ecosystèmes pélagiques Marins. Centre d'Océanologie de Marseille, Aix-Marseille Université ; CNRS ; LOBUMR 6535, laboratoire d'Océanographie et de biogéochimie, OSU/Centre d'Océanologie de Marseille, 103pp.

RAACHI (2007). Etude préalable pour une gestion intégrée des ressources du bassin versant du lac Tonga au Nord-Est Algérienne. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en géographie. P14, 44,45. Université du Québec à Montréal

RODIER J., (1984).L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Edition Dunod Paris.

RODIER J., BAZIN C., BROUTIN J. P., CHAMBON P., CHAMPSAUR H., RODI L., (1996). L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8^{ème} édition. Dunod. Paris. 1383 p.

RODIER J, ET AL., (2005).L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux

RODIER J., LEGUBE B., MARLET N., ET COLL., (2009). L'analyse de l'eau. 9^{ème} édition. Dunod. Paris. 1579 p.

REJSEK F., (2002). L'Analyse des eaux technique et aspects réglementaires, Scérèn CRDP Aquitaine, Bordeaux. 358p.

SAYAD L., (2008). Qualité physicochimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux (Wilaya de Taraf). Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie. 125 p.

SOURNIA A., (1968). « Diatomées planctoniques du canal de Mozambique et de l'île Maurice » p 152.

TRAVERS M., (1964). Diversité du microplancton du Golf de Marseille. Station Marine d'Endoume et Centre d'Océanographie, Marseille, France : 308-343.

TOUATI L., (2008). Distribution spatio-temporelle des genres Daphnia et Simocephalus des mares temporaire de la Numidie. Thèse de Magistère. Université de Guelma.70p.

UTERMÖHL H., (1958). Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Method.Int. Ver. theor. angew. Limnol., 9 : 1-39.

VILLENEUVE V., LEGARE S., PAINCHAUD J., VINCENTW., (2006) .Dynamique et modélisation de l'oxygène dissous en rivière. Rev. Sci. Eau, géol, pp. 259-274.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). (1987). Factors affecting treatment in ponds In Wastewater Stabilization pond: Principles of Planning and Practice, FMRO Technical Publication, 10, Alexandria.

Webographie :

[01]http://www.citesciences.fr/francais/ala_cite/eau_pour_tous/maladies_hydriques.

Consulter le 11/04/2014 à 12 :15

[02]http://stl.bgb.liberte.free.fr/microbio_fiches/gram_1.pdf gram 1

Consulter le 22/04/2014 à 19:20

[03]http://www.guelma.Org/francais/index_2.php?rub=sejour&surb=promenades_guelma_&goto=lc_souterrain_guelma Consulter le 8/03 /2014 à 10 :15

[04] http://mas.stephanie.free.fr/microbiologie_biol/fiches%20pdf/galerieAPI20E.pdf

Consulter le 22/04/2014 à 19:43

[05] <http://lycee-valin.fr/bgb/ftch/E1K.pdf> E1 Consulter le 21/02/2014 à 16 :05

[06]http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/water-eau/drink-potab/cyanobacteria-cyanobacteries_f.html Consulter le 12/05/2014 à 12:40

[07] <http://arnobio2.com/techniques2/20-ne.pdf> Consulter le 12/04/2014 à 16:33

Consulter 22/05/2014 à 20 :12

[08]<http://sfa.univpoitiers.fr/geosciences/sites/sfaunivpoitiers.fr@geosciences/IMG/pdf/Hydrogologie-partie3.pdf> Consulter le 12/04/2014 à 16:33

[09] <http://www.google.com/maps/> Consulter le 16/04/2014 à 11:40



ANNEXES

Les milieux de culture en boîtes :

- Milieu de Chapman :

Le milieu de Chapman mannité est un milieu électif pour la culture des staphylocoques mais, exceptionnellement, d'autres germes peuvent y végéter ; la mise en évidence du staphylocoque devra toujours être confirmée par un examen microscopique.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone bactériologique.....	10
Extrait de viande de bœuf	1
Chlorure de sodium	75
Mannitol	10
Gouge de phénol	0.025
Agar	15
pH =7.5 (environ)	

œ Préparation :

Verser 111g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- Gélose Hektoen :

La gélose Hektoen est un milieu utilisé pour l'isolement des Entérobactéries. Il permet la différenciation des Entérobactéries pathogènes.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone pepsique de viande	12
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Thiosulfate de sodium	5
Sels biliaires	9
Citrate de fer ammoniacal	1.5
Salicine	2
Lactose	12

Saccharose	12
Fuschine acide	0.1
Bleu de bromothymol	0.065
Agar	14
pH = 7.5 (environ)	

∞ Préparation :

Verser 76g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer légèrement et laisser bouillir quelques secondes. Ne pas autoclaver. Refroidir à 60°C et couler en boîte de Pétri.

- Milieu de Mac Conkey :

L'utilisation de ce milieu est recommandée pour isoler et énumérer les entérobactéries dans les eaux, le lait, les matières alimentaires, les urines. Il peut aussi être utilisé pour la recherche, dans les matières fécales, des *Salmonella*, *Shigella* et des *E. coli* entéropathogènes pour le nourrisson.

∞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone bactériologique	20
Sels biliaires	1.5
Chlorure de sodium	5
Lactose	10
Rouge neutre	0.03
Cristal violet	0.001
Agar	15
pH = 7.1	

∞ Préparation :

Verser 51,5 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 221°C pendant 15 minutes. Liquéfier au bain-marie bouillant et couler en boîte de Pétri. Après solidification, laisser sécher à l'étuve à 37°C (couvercle entrouvert).

- Gélose S.S. (*Salmonella-Shigella*):

La gélose S.S. est un milieu solide, sélectif pour l'isolement des *Salmonella* et des *Shigella*. Il inhibe totalement la croissance des bactéries à Gram positif et partiellement celle de nombreux coliformes et *Proteus*.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone	5
Extrait de viande de bœuf	5
Sels biliaires	8.5
Citrate de sodium	10
Thiosulfate de sodium	8.5
Citrate de fer	1
Lactose	10
Rouge neutre	0.025
Vert brillant	0.00033
Agar	15
pH : 7.0 (environ)	

œ Préparation :

- Verser 63g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Ne pas autoclaver.
- Porter à ébullition en agitant fréquemment pour dissoudre l'agar.
- Refroidir à 50°C. Mélanger et couler en boîte de Pétri.

- Cétrimide :

La gélose Cétrimide est un milieu solide et sélectif, utilisé pour la croissance et l'identification des *Pseudomonas aeruginosa*. Le cétrimide inhibe la croissance des bactéries autres que le *P. aeruginosa* et favorise la production des pigmentations fluorescéine et pyocyanine.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone de gélatine (bovin ou porcin).....	20
--	----

Chlorure de magnésium.....	1.4
Sulfate de potassium.....	10
Cétrimide.....	0.3
Glycérol.....	10ml
Agar.....	13.6

pH= 7.2

œ Préparation :

Verser 45.3 g de milieu déshydraté dans 1000 ml d'eau purifiée filtrée. Chauffer en agitant fréquemment et laisser bouillir une minute. Ajouter 10 ml de Glycérol. Stériliser à 121° C pendant 15 minutes. Refroidir à 45–50° C. Mélanger délicatement et distribuer dans des plats de Pétri ou des tubes à culture stériles.

-Gélose GNAB :

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Bile de bœuf.....	2g
Agar.....	8.6 g

pH = 8.6.

-Gélose nutritive :

La gélose nutritive est un milieu qui convient à la culture des germes ne présentent pas d'exigences particulières.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone.....	5g
Extrait de viande.....	1g
Extrait de levure.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	15g

PH=7.4

œ Préparation :

Verser 28g dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15, minutes.

-La gélose Sabouraud:

La gélose Sabouraud est un milieu d'isolement des *Fungi* (moisissures et levures).

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone10g
 Glucose massé.....20g
 Agar.....15g
 pH = 6.

- TGEA Gélose tryptone –glucose-Extrait de levure :**œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :**

-Tryptone.....5g.
 -Extrait de viande de bœuf.....3g.
 -Glucose.....1g.
 -Agar.....15g.
 -pH final à 25°C: 7.0 ± 0.2

-Viande foie (VF) : préparer en deux étapes :**œ Milieu de base :**

-Base viande foie.....30g
 -Glucose.....2g
 -Amidon.....2g
 -Agar.....1g
 -Eau distillée1000ml

œ Au moment de l'emploi : Ajouter à 20ml de base fondé

-Sulfate de sodium à 5%.....0,5ml
 -Alun de fer commonacol.....4gouttes.

Les milieux de culture en tubes :

- Milieu Clark et Lubs

Ce milieu sert à l'étude de deux réactions :

- Réaction de rouge de méthyle (RM) ;
- Réaction de Voges-Proskauer (VP).

Elles sont utilisées en particulier dans la différenciation des *Entérobactériaceae* (test IMVIC : indole, RM, VP, citrate de Simmons).

∞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone5
Phosphate bipotassique5
Glucose5
pH : 7.5 (environ)

∞ Préparation :

Dissoudre 15g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Mélanger jusqu'à dissolution complète. Répartir en tubes et stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- Eau peptonée exemple d'indole :

L'eau peptonée est un milieu liquide qui permet la croissance des germes ne présentant pas d'exigences particulières. Elle est surtout utilisée pour la recherche de la production d'indole.

∞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone exemple d'indole10
Chlorure de sodium5
pH final= 7.2

∞ Préparation :

Mettre 15g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution.

Ajuster, si nécessaire, le pH à 7.2. Répartir puis stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- Milieu de Litsky :

Le milieu de Litsky est utilisé pour la recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux dans les eaux.

Cette recherche comprend deux temps : présomption et confirmation. Le milieu de Rothe sert au test présomptif, le milieu de Litsky au test confirmatif.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone	20
Glucose	5
Chlorure de sodium	5
Phosphate monopotassique	2.7
Azothydrate de sodium	0,3
Ethyl-violet	0.0005
pH final = 6.8 - 7	

œ Préparation :

Mettre 35,7 g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le pH à 6,8-7. Répartir à raison de 10 ml par tube. Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 20 minutes.

- Milieu mannitol - mobilité - nitrate:

Le milieu mannitol - mobilité – nitrate est utilisé pour la différenciation rapide des Entérobactéries. Il permet de rechercher simultanément la mobilité, l'utilisation du mannitol et la réduction des nitrates en nitrites.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone	20g
Nitrate de potassium	2
Mannitol	2
Rouge de phénol à 1%	4

Agar4

pH final : 8.1- 8.2

∞ Préparation :

Mettre 28g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à l'ébullition jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le pH à 8,1- 8,2. Répartir en tubes de façon à obtenir un culot de 6 à 7cm. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- Bouillon de Rothe :

Le milieu de Rothe est utilisé pour la recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux dans les eaux.

∞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Milieu simple concentration

Peptone20

Glucose5

Chlorure de sodium5

Phosphate bipotassique2.7

Phosphate monopotassique2.7

Azothydrate de sodium0.2

pH final= 6.8-7

Milieu double concentration

Peptone40

Glucose10

Chlorure de sodium10

Phosphate bipotassique5.4

Phosphate monopotassique5.4

Azothydrate de sodium0.4

pH final= 6.8-7

œ Préparation :

Pour obtenir le milieu de Rothe « simple concentration », mettre 35.6g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.

Pour obtenir le milieu de Rothe « double concentration », mettre 71.2g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.

Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution. . Ajuster, si nécessaire, le pH à 6.8-7. Répartir à raison de 10ml par tube. Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes.

- Milieu au citrate de sodium (milieu de Simmons):

Le milieu au citrate de sodium (milieu de Simmons) est un milieu solide utilisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Il permet la recherche de l'utilisation du citrate de sodium comme seule source de carbone.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Sulfate de magnésium	0.2
Citrate de sodium	2
Chlorure de sodium	5
Phosphate d'ammonium	0.2
Phosphate d'ammonium monosodique	0.8
Bleu de bromothymol	0.08
Agar	15
pH : 7.0 (environ)	

- Gélose T.S.I (gélose glucose-lactose- saccharose- H₂S)

La gélose T.S.I est un milieu d'indentation rapide pour les Entérobactéries. Ce milieu permet de mettre en évidence la fermentation du glucose (avec ou sans dégagement gazeux), du lactose, du saccharose et la production d'hydrogène sulfuré.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone	20
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Citrate de ferrique	0.3
Thiosulfate de sodium	0.3
Lactose	10
Saccharose	10
Glucose	1
Rouge de phénol	0.024
Agar	12
PH du milieu prêt -à- l'emploi à 25°C :	7.4 ± 0.2.

- B.C.P. L (bouillon lactosé au bromocrésol- pourpre) :

Le bouillon lactosé au bromocrésol- pourpre est utilisé en bactériologie alimentaire, principalement au cours de l'analyse de l'eau. Il permet de rechercher et de dénombrer les coliformes, par la fermentation du lactose et la production de gaz.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone	5
Extrait de viande	3
Lactose	5
Pourpre de bromocrésol	0.025
pH final :	6.7

œ Préparation :

Mettre 12g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution.

Ajuster, si nécessaire, le pH à 6.9. Répartir en tube, avec cloche de Durham, à raison de 10 ml par litre. Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 20 minutes.

- King A**œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :**

- Peptone de gélatine.....	20
- Glycerol.....	10
- Sulfate de potassium anhydre.....	10
- Chlorure de magnésium anhydre.....	1.4
- Agar.....	15

- King B**œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :**

-Peptone de gélatine.....	20
-Glycerol.....	10
-Phosphate bi potassique anhydre.....	1.5
-Sulfate de magnésium (7H ₂ O).....	1.5
-Agar.....	15

- Urée tryptophane (Urée-Indole)

-Urée.....	2.0g/l
-L-tryptophane.....	0.3g/l
-Ethanol à 0,95.....	1 ml/l
-Rouge de phénol.....	2.5 mg/l
-Chlorure de sodium.....	0.5 g/l
-Dihydrogénophosphate de potassium.....	0.1 g/l
-Hydrogénophosphate de potassium.....	0.1 g/l
-pH= 7.	

Les réactifs utilisés**- Réactif rouge de méthyle (RM)**

Rouge de méthyle	0.5g
Alcool à 60°	100ml

- Réactif de Vosges Proskauer (VP)

Pour la recherche de l'acétoïne :

VP1 :

Hydroxyde de potassium40g
Eau distillée 100 ml

VP2:

Alpha naphthol 6g
Ethanol100ml

- Réactif de Kowacks

La mise en évidence de la production d'indole :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde 5g
Alcoolamylique75g
HCl pur 25ml

- Réactif de TDA

Pour la recherche du tryptophane désaminase

Peptone de fer3.4g
Eau distillée 100ml

-Réactif de Griess pour les nitrites :

NIT 1 :

Acide sulfanilique.....0,8g
Acide acétique 5N..... ..100ml

NIT 2 :

N-N-diméthyl-1-naphtylamine.....0,6g
Acide acétique 5N.....100ml

-Réactif IND :

Pour la recherche du tryptophane désaminase :

Perchlorure de fer.....	3,4g
Eau distillée.....	100ml

-Réactif de coloration de Gram :

œ Lugol

-Iode.....	1g
-Iodure de potassium.....	2g
-Eau distillée.....	1000ml

œ Violet de gentiane

-Violet de gentiane.....	1g
-Ethanol à 90%.....	10ml
-Phénol.....	2g
-Eau distillée.....	1000ml

œ Fuschine

-Fushine basique.....	1g/l
-Alcool éthylique.....	100ml/l
-Phénol.....	5 g/l
-Eau distillée.....	1000ml.

œ Solvant d'extraction acétone à 90%

Dans une fiole jaugée de 500 ml. Introduire 50 ml d'eau distillée et compléter au trait de jauge avec l'acétone déshydratée.

Tableau 13 : Table de Mac Grady utiliser en technique de numération en milieu liquide

Nombre des tubes donnant une réaction positive			Indice de NPP
3 tubes de 10 ml	3 tubes de 1ml	3tubes de 0.1	
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	2
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	29
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	1400

Tableau 14: Tableau de lecture de l'APi20E [04].

micro tube	SUBSTRAT	REACTIONS/ENZYME	RESULTATS	
			NEGATIVE	POSITIVE
ONP G	Ortho-Nitro-Phenyl-Galactoside	Beta-galactosidase	incolore	jaune
ADH	Arginine	Arginine dés hydrolase	jaune	rouge / orange
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	jaune	orange
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylases	jaune	rouge / orange
[CIT]	Sodium citrate	Utilisation de citrate	vert	bleu-vert/ bleu
<u>H₂S</u>	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	incolore	noir
URE	Urée	Uréase	jaune	rouge / orange
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	jaune	noir
IND	Tryptophane	production d'indole	incolore	rose
[VP]	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10min	
			incolore	rose/rouge
[GEL]	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune/ vert jaune
MAN	Mannitol	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
INO	Inositol	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
SOR	Sorbitol	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	Melibiose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	Amygdalin	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	Arabinose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
NO ₃ - NO ₂	Tube GLU	production de NO ₂ reduction N ₂ gas	NIT 1 + NIT 2 2-3 min jaune rouge	

Tableau 15 : Tableau de lecture pour l'API 20 NE [07].

Tests	Substrat	Enzymes/Réaction	Résultats	
			Négatif	Positif
NO3	Nitrate de potassium	Réaction des nitrates en nitrates	NIT 1 + NIT 2 / 5mn	
			Incolore	Rose-rouge
		Réaction des nitrates en azote	ZN / 5 mn	
			Rose	Incolore
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	TRP / 3-5 mn	
			Incolore	Goutte rouge
GLU	Glucose Fermentation	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine	Hydrolyse	Jaune	Gris/marron/ noir
GEL	Gélatine	Hydrolyse	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	p-nitro-phényl- β Dgalactopyranoside	β -galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose			
MNE	Mannose			
MAN	Mannitol			
NAG	N-acétylglucosamine			
MAL	Maltose			
GNT	Gluconate			
CAP	Caprate			
ADI	Adipate			
MLT	Malate			
CIT	Citrate			
PAC	Phényl-acétate			
OX	Tetraméthyl-pphenylène diamine			

Tableau 16 : Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température [Merzoug, 2009].

Température	Qualité
<20°C	Normale
20°C-22°C	Bonne
22°C-25°C	Moyenne
25°C-30°C	Médiocre
>30°C	Mauvaise

Tableau 17 : Classifications des eaux d'après leur pH [Hakmi, 2002].

pH	Nature de l'eau
pH < 5	Acidité forte : présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles
pH = 7	pH neutre
7 < pH < 8	Neutralité approchée : majorité des eaux de surface
5.5 < pH < 8	Majorité des eaux souterraines
pH > 8	Alcalinité forte, évaporation intense

Tableau 18 : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique [Merzoug, 2009].

Conductivité électrique ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	Qualité des eaux
CE<400	Bonne
400<CE<750	Bonne
750<CE<1500	Passable
1500<CE<3000	Médiocre

Tableau 19: Qualité des eaux en fonction de l'oxygène dissous [ANRH ,2001].

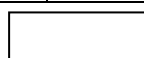
l'oxygène dissous (mg/l) l'oxygène dissous (%)	qualité des eaux
>7mg/l —> 90%	Normal
Entre 5et7mg/l —> 70%à90%	Bonne
Entre 3à5mg/l —>50%à70%	Moyenne
<3mg/l —> <50%	Médiocre

Tableau 20 : Présence, absence des espèces dans les trois stations.

	S1		S2		S3	
	Mars	Avril	Mars	Avril	Mars	Avril
<i>Trachelomonas sp.</i>						
<i>Lepocinclis sp</i>						
<i>Euglena anabaena</i>						
<i>Cryptomonas erosa</i>						
<i>Navicula cryptotenella</i>						
<i>Navicula radiosa</i>						
<i>Navicula steckerae</i>						
<i>Navicula vanhoeffenii</i>						
<i>Navicula salinarum</i>						
<i>Cyclotella comta</i>						
<i>Cyclotella ocellata</i>						
<i>Fragilaria crotenensis</i>						
<i>Meridion circulare</i>						
<i>Stauroneis sp</i>						
<i>Ulnaria ulna</i>						
<i>Diatoma vulgare</i>						
<i>Pseudo- Nitzschia seriata</i>						
<i>Cocconeis placentula</i>						
<i>Gyrosigma attenuatum</i>						
<i>Achnanthes sp</i>						
<i>Achnanthes minutissima</i>						
<i>Nitzschia longissima</i>						
<i>Nitzschia palea</i>						
<i>Tabellaria sp</i>						
<i>Surirella sp</i>						
<i>Cymbella lanceolata</i>						
<i>Melosira ambigua</i>						
<i>Melosira granulata</i>						
<i>Chroococcus turgidus</i>						
<i>Microcystis aeruginosa</i>						
<i>Dictyosphaerium sp</i>						
<i>Closterium parvulum</i>						
<i>Tetrastrum staurogeniaeforme</i>						
<i>Ulothrix sp</i>						
<i>Reticulatum sp</i>						



Présence

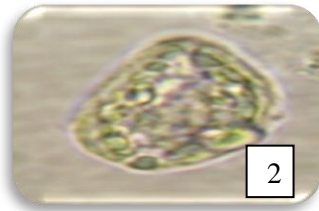


Absence

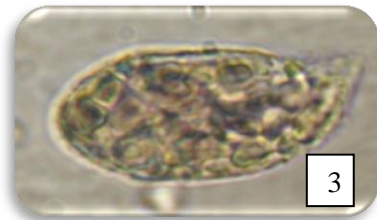
✚ Les Euglenophytes



1



2



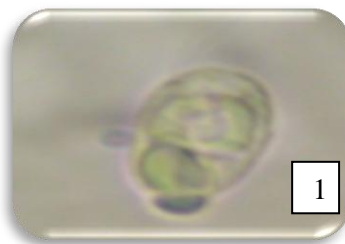
3

1- *Trachelomonas* sp.

2- *Lepocinclis* sp

3 - *Euglena anabaena*

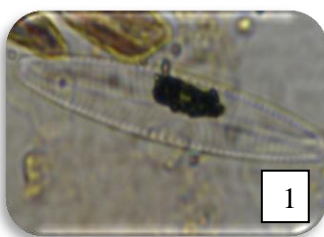
✚ Les Pyrrhophytes



1

1- *Cryptomonas erosa*

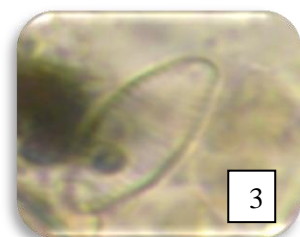
✚ Les Chrysophytes



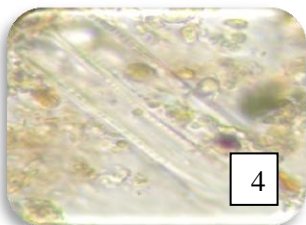
1



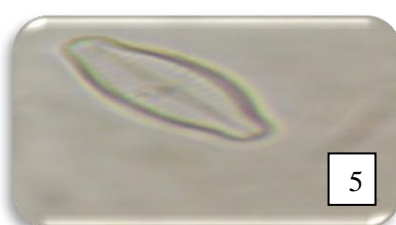
2



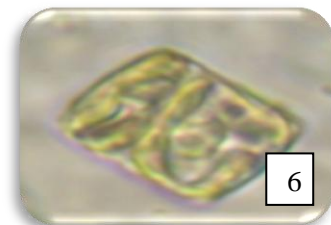
3



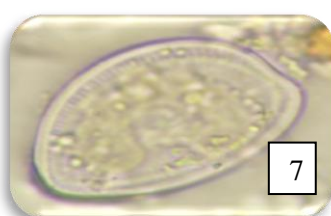
4



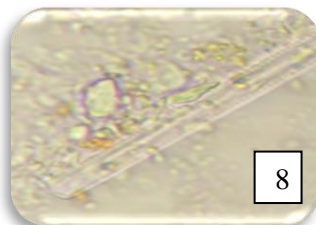
5



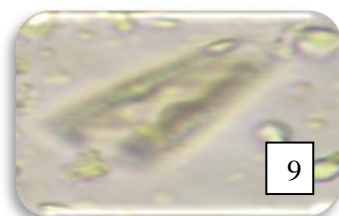
6



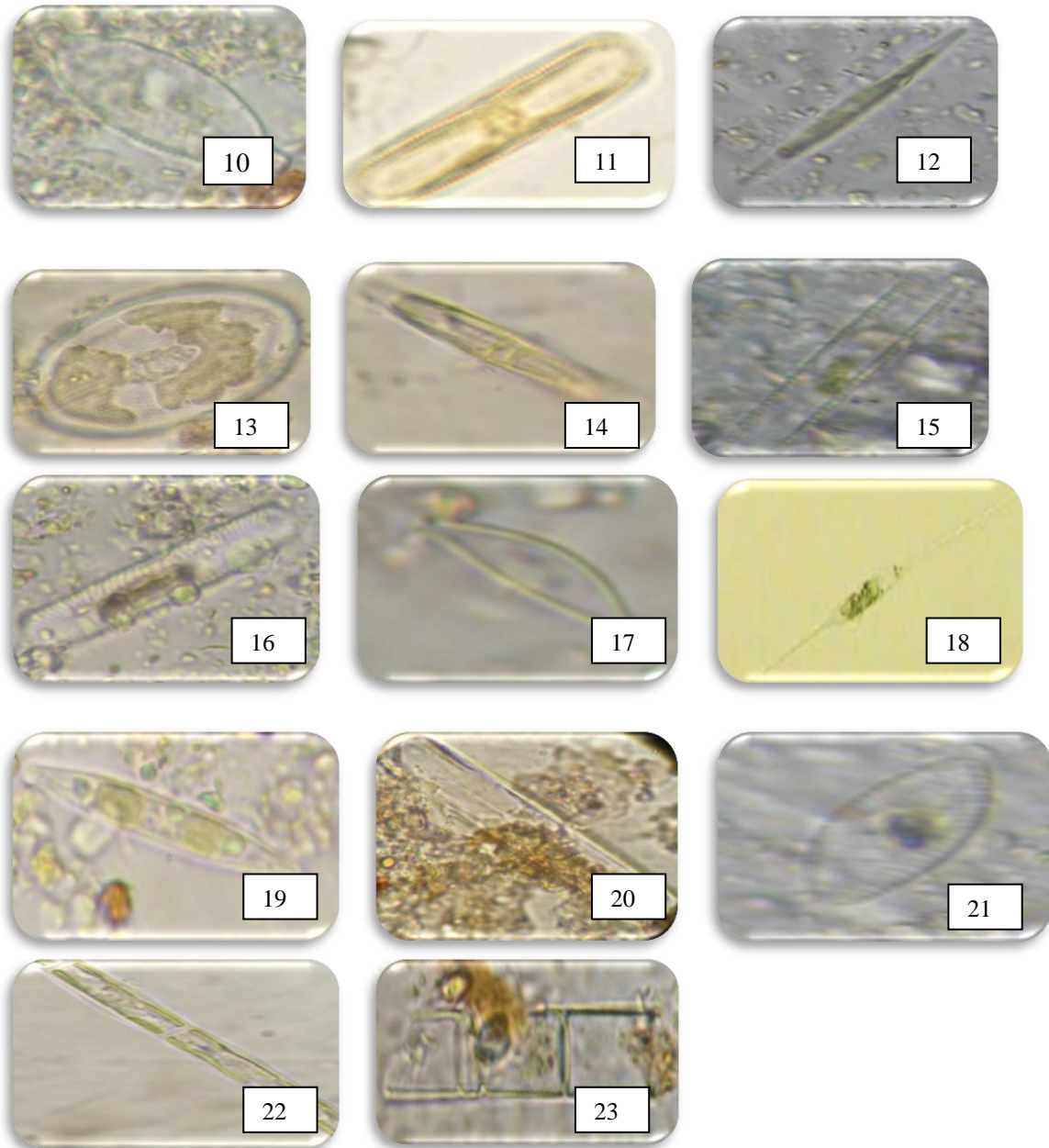
7



8



9



1-*Navicula cryptotenella*

2- *Navicula radiosa*

3- *Navicula steckerae*

4- *Navicula vanhoeffenii*

5- *Navicula salinarum*

6-*Cyclotella comta*

7- *Cyclotella ocellata*

8- *Fragilaria crottenensis*

9- *Meridion circulare*

10-*Stauroneis sp*

11- *Diatoma vulgare*

12- *Pseudo- Nitzschia seriata*

13- *Cocconeis placentula*

14- *Gyrosigma attenuatum*

15- *Achnanthes* sp

16- *Achnanthes minutissima*

17- *Cymbella lanceolata*

18- *Nitzschia longissima*

19- *Nitzschia palea*

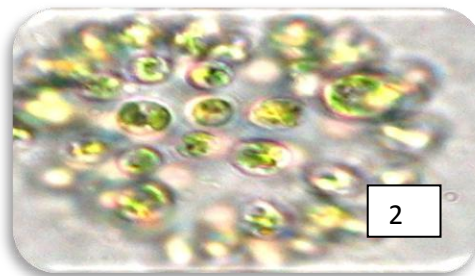
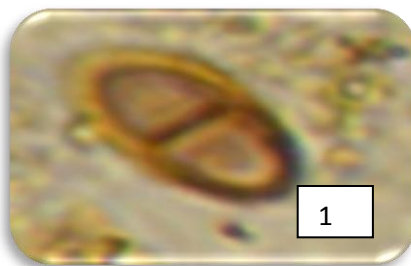
20- *Tabellaria* sp

21- *Surirella* sp

22- *Melosira ambigua*

23- *Melosira granulata*

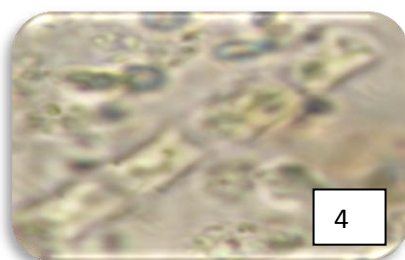
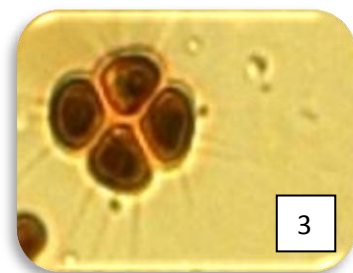
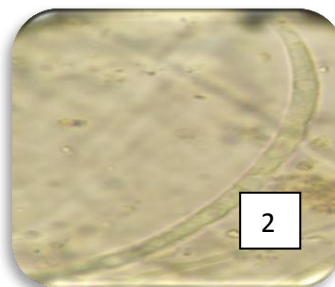
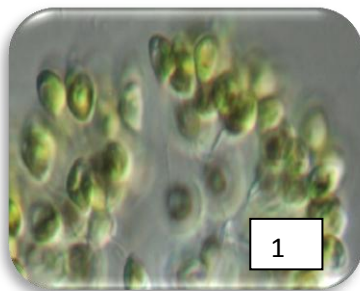
✚ Cyanobactéries



1- *Chroococcus turgidus*

2- *Microcystis aeruginosa*

✚ Les Chlorophytes



1- *Dictyosphaerium* sp

2- *Closterium parvulum*

3- *Tetrastrum staurogeniaeforme*

4- *Ulothrix* sp

5- *Reticulatum* sp

