



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences
de la Terre et de l'Univers



Département de Biologie

Laboratoire : Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique

MEMOIRE

Présenté par

Melle Soufi Kawtar

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie

Thème

**Contribution à l'étude des Bactéries Marines à Gram négatif isolées
à partir d'une station de dessalement d'eau de mer**

Soutenu le Juin 2023, devant le jury composé de :

Présidente	Boucherit-Otmani Zahia	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Kazi Tani Zahira Zakia	MCA	Université de Tlemcen
Examineur	Seghir Abdelfettah	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

Dédicaces

Je dédie cet humble mémoire

A

Mes très chers et adorables parents,

Aux quels je dois ce que je suis, pour leur amour, leurs encouragements, leur soutien moral et leurs prières tout au long de mon parcours.

Ma chère grand-mère décédée,

Que dieu la garde dans son vaste paradis.

Mes frères Abd-elmounaim et Yacine,

A qui je souhaite beaucoup de réussite dans leurs parcours scolaire.

Mes chères tantes Yamina et Saleha

Qui m'ont soutenue tout au long de ce travail par ces précieux encouragements.

Mes amies Marwa, Chaimae, Rafika

Mon fiancé Abderrahmane

Et à tous qui m'ont aidé Moncef, Nabila, Fatima

Remerciements

Ce travail a été réalisé au niveau du « Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activités Biologiques » de l'université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à Madame Kazi Tani - Baba Ahmed Z.Z., Maître de conférences classe A, au Département de Biologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour son encadrement, ses encouragements, ses conseils, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'elle m'a témoigné tout au long de cette étude

Mes vifs remerciements s'adressent aussi à Madame Boucherit-Otmani Z., Professeur au département de Biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury de ce mémoire. Qu'elle trouve ici l'assurance de mon profond respect. Je la remercie également pour ses encouragements et ses précieux conseils.

J'adresse aussi mes vifs remerciements au Docteur Seghir A., Maître de conférences classe A, au Département de Biologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen.

Je remercie également les doctorants du laboratoire "Antibiotiques Antifongiques physico-chimie, synthèse et activité biologique", particulièrement Benatia Fatima Zahra et les étudiants de master "Biochimie"

تم أخذ عينة من مياه البحر في 14 فبراير 2023 ، من شاطئ تافسوت الذي يزود محطة تحلية المياه البحرية. تم تحديد البكتيريا البحرية سالبة الجرام عن طريق الاختبارات العيانية والميكروسكوبية والكيميائية الحيوية. سمحت لنا النتائج التي تم الحصول عليها باختيار خمس مستعمرات ذات أشكال مختلفة وحركية مختلفة. تم تعيين سلالتين فقط إلى أجناس فلافوباكثيريوم ، روزوفاريوس يعد استخدام تقنيات البيولوجيا الجزيئية أمرًا ضروريًا لتحديد البكتيريا البحرية.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا البحرية ، سالبة الجرام ، التعريف ، فلافوباكثيريوم ، روزوفاريوس

Résumé

Un prélèvement d'eau de mer a été effectué le 14 février 2023, à la plage de Tafsout d'où s'alimente la station de dessalement « Société Espagnol UTE DESALADORA ». L'identification des bactéries marines à Gram négatif a été réalisé par des méthodes macroscopique, microscopique et des tests biochimiques. Les résultats obtenus nous ont permis de sélectionner cinq colonies de morphologie différentes et de mobilité différente.

Seules deux souches ont été assignées aux genres *Flavobacterium* et *Roseovarius*. Le recours aux techniques de biologie moléculaire est indispensable à l'identification des bactéries marines.

Mots clés : Bactéries marines, Gram négatif, Identification, *Flavobacterium*, *Roseovarius*.

Summary

A seawater sample was taken on February 14, 2023, at Tafsout beach from which the desalination station "Spanish Company UTE DESALADORA" is supplied. The identification of Gram-negative marine bacteria has been achieved by macroscopic, microscopic and biochemical tests. The results obtained allowed us to select five colonies of different morphology and different mobility.

Only two strains have been assigned to the genera *Flavobacterium* and *Roseovarius*. The use of molecular biology techniques is essential for the identification of marine bacteria.

Keywords: Marine bacteria, Gram negative, Identification, *Flavobacterium*, *Roseovarius*.

SOMMAIRE

Première partie : Introduction	1
Deuxième partie : Synthèse bibliographique.....	2
Troisième partie : Matériel et méthodes.....	8
1. Prélèvement.....	8
2. Isolement.....	8
3. Identification.....	8
3.1 Identification macroscopique	8
3.2 Identification microscopique.....	8
3.2.1 Etat frais	8
3.2.2 Coloration de Gram.....	9
3.3 Identification Biochimique.....	9
3.3.1 Fermentation des sucres.....	9
3.3.2 Mannitol mobilité.....	9
4. Etude de la mobilité.....	9
Quatrième partie : Résultats et discussion.....	10
Cinquième partie : Conclusion.....	18
Sixième partie : Références bibliographiques.....	19
Septième partie : Annexes.....	25

Liste des tableaux

Tableau 1	Caractéristiques des souches des bactéries marines isolées.....	10
------------------	---	----

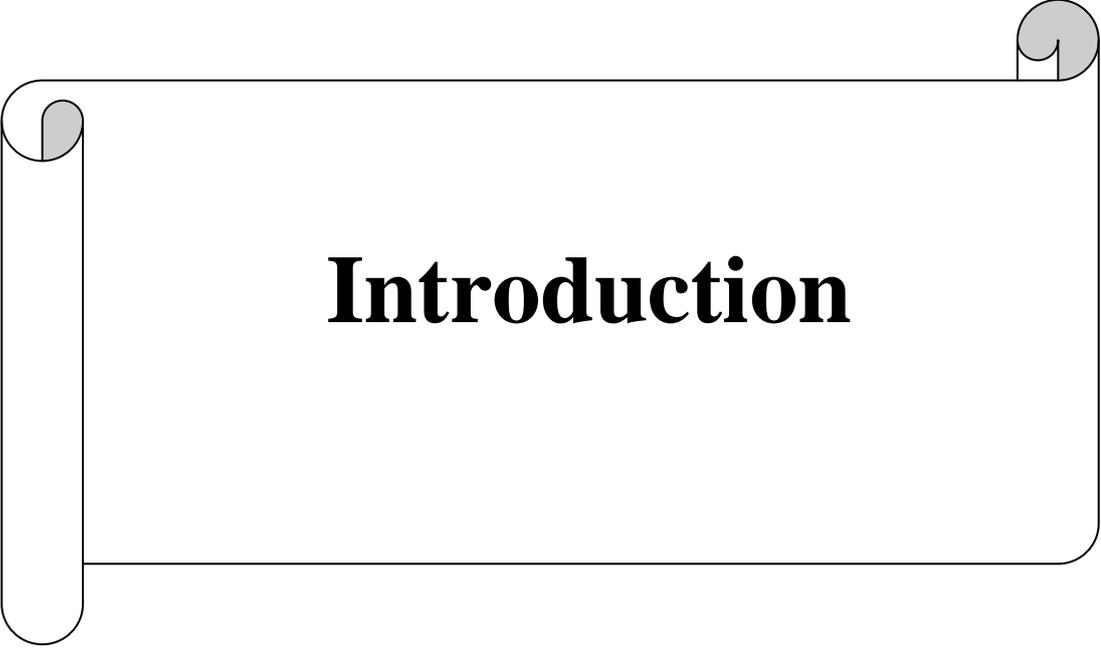
Liste des Figures

Figure 1. Croissance microbienne en fonction de la température (Lassalle, 2014).....4

Figure 2. Les principaux procédés de dessalement (Méricq., 2009).....7

Liste des Photos

Photo 1. Souche B1.....	11
a) Observation microscopique après coloration de gram	
b) Observation macroscopique des testes de mobilité.	
Photo 2. Souche B2.....	12
a) Observation microscopique après coloration de gram	
b) Observation macroscopique des testes de mobilité.	
Photo 3. Souche T.....	13
a) Observation microscopique après coloration de gram	
b) Observation macroscopique des testes de mobilité.	
Photo 4. Souche B3.....	14
a) Observation microscopique après coloration de gram	
b) Observation macroscopique des testes de mobilité.	
Photo 5. Souche OR.....	15
a) Observation microscopique après coloration de gram	
b) Observation macroscopique des testes de mobilité.	



Introduction

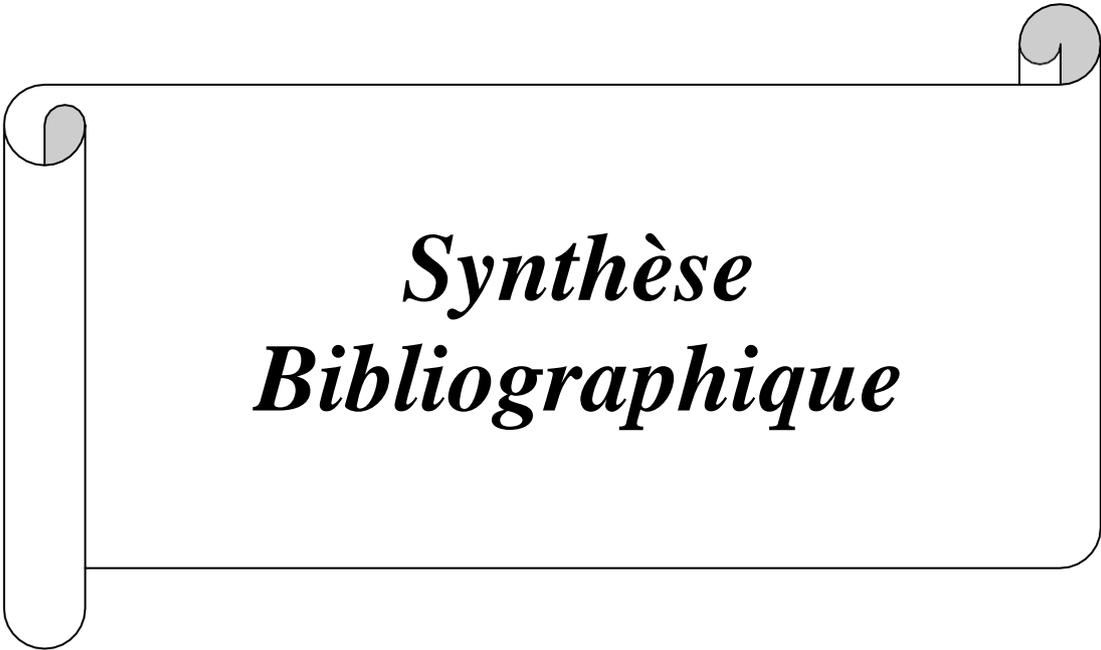
L'eau est une ressource essentielle à la vie sur terre (**Cherif, 2018**). Chaque développement d'une région dans tous les domaines dépend essentiellement du développement du secteur hydraulique. Elle est présente sous différentes formes, y compris l'eau douce et l'eau de mer.

L'eau de mer couvre plus de 70% de la surface de la terre et abrite une vaste gamme de formes de vie. Parmi elles, on trouve les bactéries marines qui jouent un rôle crucial dans les écosystèmes marins (**Fenical, 1993**).

Les bactéries marines présentent une grande variété de fonction et de formes d'adaptation, ce qui leur permet de prospérer dans des conditions environnementales extrêmes (**Magot, 1998**).

Les pays en situation de stress hydrique sont de plus en plus nombreux et les besoins d'eau ne cessent de grandir (**Salomon, 2012**). Ce stress a amené les pouvoirs publics à recourir à de nouvelles techniques de production d'eau potable pour satisfaire la consommation d'eau (**Goosen et coll., 2001**).

Parmi ces techniques, le dessalement de l'eau de mer qui présente des défis, dont le colmatage biologique des membranes de filtration par des bactéries marines (**Monnot, 2015**).



*Synthèse
Bibliographique*

L'eau est une ressource naturelle vitale pour la survie de l'humanité et de toutes les espèces vivantes. Elle recouvre près de 70% de la surface de la terre et constitue le liquide le plus abondant sur la planète (**Cherif, 2018**).

L'eau douce ne représente que 0,7% d'eau potable qui est disponible pour l'utilisation humaine avec une distribution inégalée (**CIE, 2011**). Elle est contenue dans les lacs, les rivières, les glaciers, les nappes phréatiques, etc. (**Maafa, 2015**).

L'eau salée présente 97,3% de l'eau à la surface de la terre (**Tansakul, 2009**). Il existe deux différents types d'eau salée :

✓ Les eaux saumâtres qui sont des eaux salées non potables, de salinité inférieure à celle de l'eau de mer (contient entre 1 et 10 g de sels par litre) (**Viviane, 2014**). Ce sont parfois des eaux de surface, mais le plus souvent des eaux souterraines (**Dahmani, 2017**).

✓ L'eau de mer a une teneur en sels d'approximativement 35g/l, ce qui limite énormément l'utilisation de cette immense quantité d'eau comme source d'eau potable. Plus de 99.99% des espèces dissoutes dans l'eau de mer sont des sels (**Maurel, 2006**). L'eau de mer contient certains éléments nutritifs. Ces éléments sont principalement le phosphore, l'azote inorganique (64%), le silicium et de l'oxygène (34%) (**Monnot, 2015**).

L'eau de mer est massivement complexe et consiste en un assemblage diversifié de forme de vie (**Fenical, 1993**). Elle contient de la matière organique particulaire dont les constituants possèdent des tailles variées : les phytoplanctons, les levures, les petits organismes hétérotrophes comme les micro-zooplanctons et des bactéries (**Zizi, 2013**).

Les microorganismes rencontrés dans l'eau sont très variés, leur nature dépend du type d'eau. Les bactéries hétérotrophes constituent la majeure partie de la matière organique particulaire de dimension comprise entre 0,2 et 2 µm, leur concentration est d'environ 1×10^6 cellules par ml (**Maafa, 2015**). En raison du milieu marin pauvre en nutriments, la plupart de ces bactéries sont dans un état de latence (**Maurel, 2006**). La présence de ces bactéries étant liée à la quantité de particules présentes dans l'eau (**Simon et coll., 2002**).

D'après **Ruppe et ses collaborateurs (2015)**, les principaux microorganismes marins sont : les bactéries à Gram positif, mais la très grande majorité sont les bactéries marines à Gram négatif (**Brian-jaisson, 2014**). Ils ont une membrane

externe qui contient des exo-enzymes utilisées pour dégrader la matière organique du milieu externe. La plupart sont sous forme bâtonnets et sont mobiles. Il existe deux types de mobilité : La mobilité flagellaire qui permet de s'approcher de la surface (**Harshey, 2003**), et la mobilité de Pili de type IV qui est impliquée dans la formation des micro-colonies et la colonisation de surface (**Mattick, 2002**).

Pseudomonas, Vibrio, Flavobacterium, Achromobacter, Acinetobacter, sont les genres les plus rencontrés dans le milieu marin (**Brisou, 1995**). En effet, les communautés benthiques sont dominées par les *Gammaproteobacteria*, les *Deltaproteobacteria*, les *Planctomycetes*, les *Actinobacteria* et les *Acidobacteria* qui sont souvent des taxons possédant des métabolismes particuliers (**Bœuf, 2013**). Les communautés benthiques en milieu côtier sont plus hétérogènes en composition qu'en milieu profond, mais ne montrent pourtant pas de différences globales très marquées (**Zinger et coll. 2011**). En revanche, les communautés pélagiques sont dominées par les *Alphaproteobacteria*, les *Cyanobacteria* et les *Bacteroidetes* (en particulier les *Flavobacteria*).

Les communautés pélagiques et benthiques ne partagent que peu de taxons. Les proportions de *Flavobacteria* et de *Rhodobacterales* (*Alphaproteobacteria*) augmentent dans les milieux côtiers plus riches en nutriments et en particules (**Kirchman, 2002 ; Buchan et coll., 2005**).

Dans les milieux marins pauvres en nutriments les *Cyanobacteria* sont le groupe dominant. Les *Betaproteobacteria*, représentent la classe abondantes dans les eaux douce mais semblent restreintes dans les milieux côtiers (**Zwart et coll., 2002 ; Riemann et coll., 2008**).

Selon **Debabza(2005)**, la flore bactérienne de l'eau de mer est de trois types :

1. Typiquement aquatique : *Vibrio, Pseudomonas, Achromobacter, Chromobacterium, Spirillum, Corynebacterium, Flavobacterium*.
2. Tellurique : sont des bactéries sporulées *Bacillus, clostridium* ou genre *Streptomyces*.
3. De contamination humaine ou animale : change en fonction du temps. Elle n'est pas stable, et elle finit par disparaître s'il n'y a pas un apport continu de nutriments.

La flore bactérienne autochtone, est une flore permanente qui s'adapte à son environnement. La température est le paramètre le plus important de cette adaptation (**Figure 1**) ; (**Magot, 1998**).

- Psychrophiles : sont des bactéries qui se développent à basse température (*Photobacterium, Colwellia, Moritella, Shewanella et Psychromona*), quel que soit le genre auquel elles appartiennent. Leurs membranes présentent un taux important d'acides gras insaturés afin que celles-ci gardent une certaine fluidité à basse température et à haute pression (**Collin et coll., 2006**). Les enzymes provenant d'organismes psychrophiles ont un site actif particulièrement flexible pour permettre les mouvements nécessaires au processus catalytique (**Feller et Gerday, 2003**).
- Mésophiles : sont des bactéries qui se développent à des températures ordinaires comprises entre 20 et 40°C (bactéries méso-thermes) et dans des conditions moyennes d'humidité tel les *Roseovarius* (**Agogué, 2004**).
- Thermophiles : sont des bactéries qui se développent à des températures entre 40 et 60°C tel *Thermusaquaticus*.
- Hyper-thermophiles: sont des bactéries qui ont un optimum de croissance à des températures supérieures à 80°C. Ces bactéries ne sont pas seulement capables de survivre à des températures avoisinant la température d'ébullition de l'eau, mais ils ont besoin de hautes températures pour se développer (**Lassalle, 2014**).

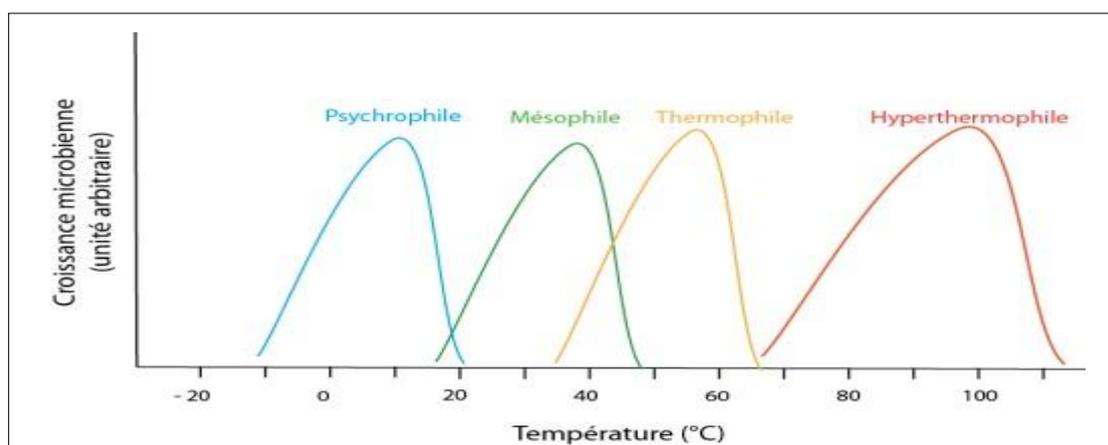


Figure 1. Croissance microbienne en fonction de la température (**Lassalle, 2014**).

Pour la salinité, il existe des bactéries marines halophiles qui sont définies comme

des microorganismes qui se développent de manière optimale dans des milieux contenant 0,5 à 2,5 M (3 à 15%) de NaCl (**Echigo et coll., 2005**). En revanche, les bactéries halotolérantes qui sont définies comme des microorganismes qui peuvent se développer sur une grande variété de concentration de sels, mais avec un taux de croissance optimal en l'absence de sel. Par définition, un organisme halotolérant nécessite au minimum 9 % en NaCl pour sa croissance (**Joo et Kim, 2005 ; Bowers et coll., 2009**).

Il existe aussi des bactéries marines qui résistent à des pressions de plus de 300 bars (**Neidhardt et coll., 1990**). Ces bactéries sont dites piézophiles. Ce sont des bactéries qui se développent de façon optimale à hautes pressions (**Balny et coll., 2002**). La majorité des piézophiles font partie des psychrophiles. Certains piézophiles sont incapables de se développer à pression ambiante et sont qualifiés de piézophiles stricts (**Lassalle, 2014**).

Les bactéries marines ayant aussi des capacités biodégradatives des hydrocarbures. La majorité de ces bactéries décrite actuellement appartiennent aux *Proteobactéries*. Ils appartiennent pour la plupart aux *Gammaprotéobactéries* (*Marinobacter, Alkalinovorax, Oleispira, Oleiphilus, Antarctica, Thalassolituus, Neptunomonas, Cycloclasticus*) (**Meersman et coll., 2013**).

De plus, il a été montré de nombreuses fois que les communautés bactériennes marines présentent une proportion plus importante de bactéries pigmentées. Il est probable que les pigments aient un effet protecteur contre les radiations solaires (**Agogué, 2004**). Par exemple, les bactéries de genre *Flavobacterium* sont colorées en jaune pâle, vif ou orangé. Ces couleurs sont dues à la présence de pigments de type caroténoïdes ou flexirubines selon les espèces (**Barbier, 2013**).

Les pays en situation de stress hydrique sont de plus en plus nombreux et les besoins d'eau ne cessent de grandir (**Salomon, 2012**). Ce stress a amené les pouvoirs publics à recourir à de nouvelles techniques de production d'eau potable. Une des techniques prometteuse pour certains pays est le dessalement de l'eau de mer ou des eaux saumâtres (**Goosen et coll., 2001**). Le dessalement d'eau de mer (également appelé dessalage) est un processus de déminéralisation qui permet de retirer le sel de l'eau salée ou saumâtre (**Ben Belkacem et Belaid, 2013**).

Le dessalement est en très forte croissance dans le monde, avec une capacité installée qui augmente en moyenne de 10% par an (**Boyé, 2009**). Les usines de traitement concernent à 90% l'eau de mer et à 10% les eaux saumâtres (nappes souterraines salines). Près de 60 millions de m³ d'eau douce sont produits chaque jour par 17 000 installations réparties dans 120 pays, à partir des mers (**Salomon, 2012**).

L'Algérie est confrontée à la problématique de l'eau en raison de la rareté des pluies, ainsi que leur fréquence disparate et irrégulière. La présence de littoral maritime de 1622 km offre à l'Algérie une autre possibilité qui consiste à dessaler l'eau de mer (**Kehal, 2001**). En 2001, l'algérienne des eaux a lancé la réalisation d'une série de 21 unités de dessalement de l'eau de mer chacune totalisant la production de 57500m³/j (**Akretche, 2004**).

Parmi les stations de dessalement de l'eau de mer en Algérie

- Wilaya d'Alger : 12 stations pour un volume journalier de 30.000m³.
- Wilaya de Boumérdes : 01 station pour un volume journalier de 5000m³.
- Wilaya de Skikda : 04 stations pour un volume journalier de 10.000m³.
- Wilaya de Tlemcen : 02 stations pour un volume journalier de 5000m³.
- Wilaya de Tizi-Ouzou : 01 station pour un volume de 2500m³.

(**Ben Belkacem et Belaid, 2013**).

Les procédés de dessalement se répartissent en deux grandes catégories (**Figure 2**) : d'une part les procédés à distillation (thermique) et d'autre part les procédés à membranes (filtration) (**Sadi, 2000**).

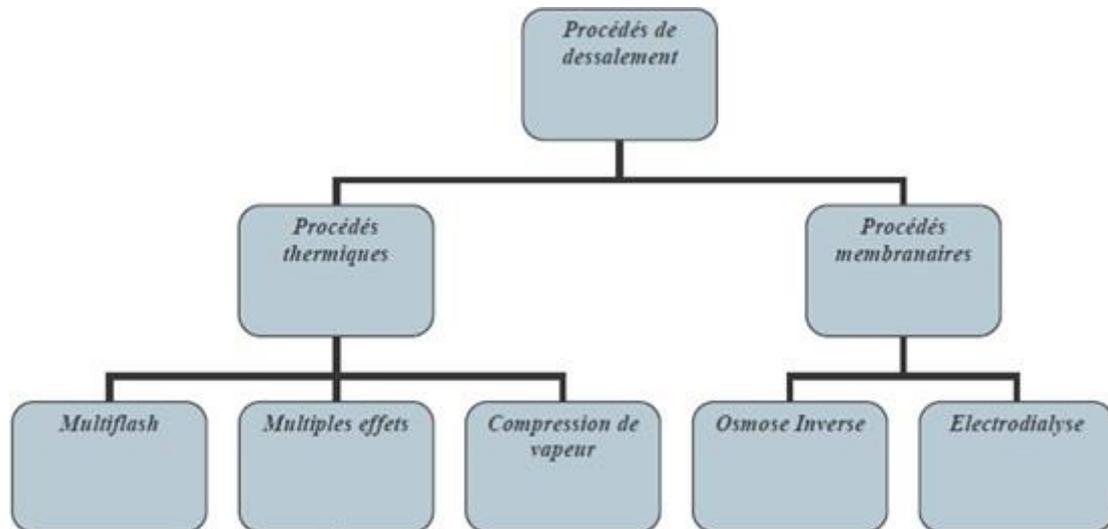


Figure 2. Principaux procédés de dessalement (**Méricq, 2009**)

Un des problèmes rencontrés dans les différents processus de dessalement est que les éléments impliqués dans la filtration sont très sensibles au phénomène de colmatage, qui est un ensemble de mécanismes et de phénomènes physiques, chimiques, ou biologiques entre les constituants des agents colmatant et les surfaces membranaires qui limitent le flux de perméation (**Crini et Batod, 2007**)

Le biocolmatage est un type de colmatage biologique effectué par des microorganismes marins dans les membranes d'osmose inverse dans une station de dessalement d'eau de mer (**Monnot, 2015**). La gravité de ce type de colmatage est fortement liée aux caractéristiques de l'eau de l'alimentation (**Hammadouche, 2003**).

C'est dans ce contexte que nous nous sommes proposé d'identifier les bactéries marines à Gram négatif au niveau de la plage de Tafout et qui pourraient être à l'origine du biocolmatage des membranes de filtration de la station de dessalement d'eau de mer « Société Espagnol UTE DESALADORA ».



Matériel et méthodes

Ce travail est réalisé au laboratoire "Antibiotiques Antifongiques: physico-chimie, synthèse et activité biologique" de l'Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.

1. Prélèvement

Le prélèvement d'eau de mer est effectué le 14 février 2023, au niveau de la plage de Tafout à une profondeur de 30 à 40cm, l'état de la mer est calme. Cette plage est située à mi-chemin entre Ghazaout et Beni-safdans la daïera de Honaine, une zone urbaine à 60 km au Nord de Tlemcen. Elle est localisée à la latitude 35,1861 N et à la longitude -1,6478E, à environ 1km de la station de dessalement d'eau de mer.

2. Isolement

200 µl d'eau de mer sont étalés directement ou après une dilution au 1/10 sur milieu R2A salé additionné de NH_4Cl en boîtes de Pétri. La composition du milieu de culture est présentée en annexe (1). L'incubation se fait à l'obscurité, à 22°C pendant 10 jours (**Doghri et coll., 2020**). Chaque colonie est repiquée puis purifiée 3 fois avant d'être caractérisée.

3. Identification

L'identification est basée sur la détermination des caractères morphologiques et biochimiques :

- Etude macroscopique.
- Etude microscopique.
- Etude biochimique.

3.1 Identification macroscopique

Cette technique consiste à observer à l'œil nu des colonies des souches bactériennes isolées pour déterminer les caractères morphologiques :

- Forme.
- Taille.
- Bord.
- Aspect surface.
- Consistance.

3.2 Identification microscopique

3.2.1 Etat frais

A partir d'une culture de 72H, une colonie est déposée sur une lame contenant une goutte d'eau distillé, puis recouverte d'une lamelle et observée directement au microscope optique avec un grossissement de 400.

3.2.2 Coloration de Gram

Une goutte de culture bactérienne de 72H est séchée puis fixée sur une lame de verre. Les bactéries ont été ensuite colorées au cristal violet et contre colorées par la fushine. L'observation se fait au microscope optique avec un grossissement de 400.

3.3 Identification biochimique

3.3.1 Fermentation des sucres

La gélose TSI permet la mise en évidence rapide de la fermentation des sucres avec ou sans production de gaz et de la production du sulfure d'hydrogène. Les fermentations sucrées se traduisent par une acidification qui fait virer au jaune l'indicateur pH (rouge de phénol). La pente du milieu TSI est ensemencée par strie serrée et le culot par piqure centrale, puis incubée à 22C° pendant 24h.

3.3.2 Mannitol mobilité

Le milieu Mannitol-mobilité permet de rechercher simultanément la mobilité et l'utilisation du mannitol. L'ensemencement se fait par piqure centrale du culot et l'incubation à 22°C pendant 24h.

4. Etude de la mobilité

Cette étude permet de distinguer les différents modes de mobilité, « Swimming, Swarming, Twitching », des bactéries en milieu liquide, semi-solide ou solide. Elle consiste à réaliser des cultures bactériennes sur milieux à base de NH_4Cl liquides (annexe 2), à 22°C sous agitation (120 rpm). 5 μL de cultures sont déposées sur les mêmes milieux rendus semi-solide ou solide par l'ajout de (0.3%, 0.53%, 1.5%) d'agar respectivement.



Résultats et discussion

Résultats

Les résultats d'identification macroscopique, microscopique ainsi que les caractères biochimiques permettent de sélectionner cinq souches différentes B1, B2, B3, T et OR (Tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques des souches de bactéries marines isolées

	Souche B1	Souche B2	Souche B3	Souche T	Souche OR
Couleur	Blanche Centre gris	Blanche	Blanche	Transparente	Orange claire
Forme macroscopique	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde
Forme microscopique	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille	Bacille
Aspect surface	Bombée	Bombée	Bombée	Bombée	adhérentes à la gélose
Bord	Régulier	Régulier	Régulier	Irrégulier	Irrégulier
Taille	Moyenne	Petite	Grande	Grande	Grande
Consistance	Crémeuse	Visqueuse	Crémeuse	Crémeuse	Crémeuse
D-Mannitol	Négative	Positive	Négative	Négative	Négative
TSI	Négative	Positive	Positive	Négative	Négative
Etat frais	Mobile	Mobile	Mobile	Immobile	Mobile
Type de Mobilités	Swarming	Twitching	Swarming	Immobile	Swarming

La souche B1 se présente sous forme de colonie blanche avec un centre gris, ronde, bombée, crémeuse, avec une taille moyenne et des bords réguliers après 10 jours d'incubation sur un milieu R2As additionnée de NH_4Cl à 22°C . La souche B1 est une bactérie à Gram négatif (Figure 1-a), Mannitol-mobilité-, TSI-, et se présente sous forme de bacilles mobiles, avec un type de mobilité « Swarming » (Figure 1-b).

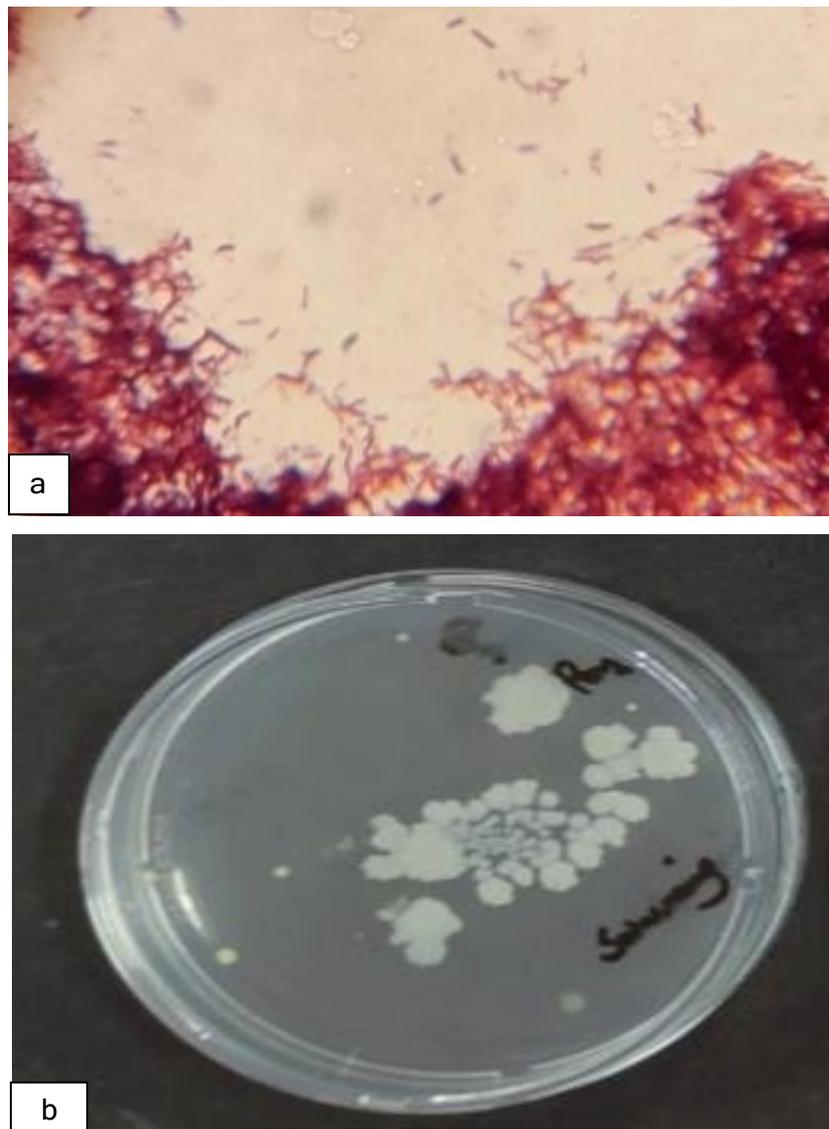


Photo 1. Souche B1.

- a) Observation microscopique après coloration de Gram (G X400).**
- b) Observation macroscopique du test de mobilité.**

La souche B2 se présente sous forme de colonie blanche, ronde, bombée, visqueuse, avec une petite taille et des bords réguliers après 10 jours d'incubation sur un milieu R2As additionnée de NH_4Cl à 22°C . La souche B2 est une bactérie à Gram négatif (Figure 2-a), Mannitol-mobilité+, TSI+, et se présente sous forme de bacilles mobiles, avec un type de mobilité « Twitching » (Figure 2-b).

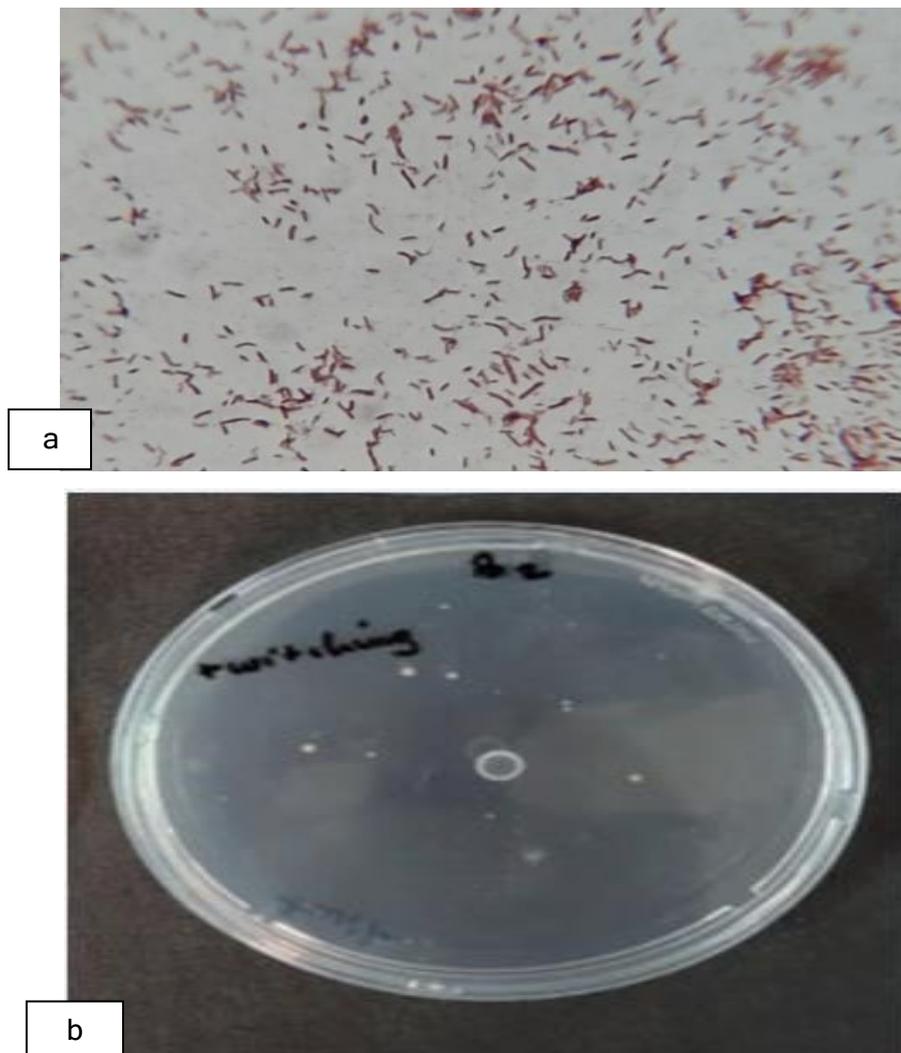


Photo 2. Souche B2.

- a) Observation microscopique après coloration de Gram (G X400).**
- b) Observation macroscopique du test de mobilité.**

La souche T se présente sous forme de colonie transparente, ronde, bombée, crémeuse, avec une grande taille et des bords irréguliers après 10 jours d'incubation sur un milieu R2As additionnée de NH_4Cl à 22°C . La souche T est une bactérie à Gram négatif (Figure 3-a), Mannitol-mobilité-, TSI-, et se présente sous forme de bacilles immobiles (Figure 3-b).

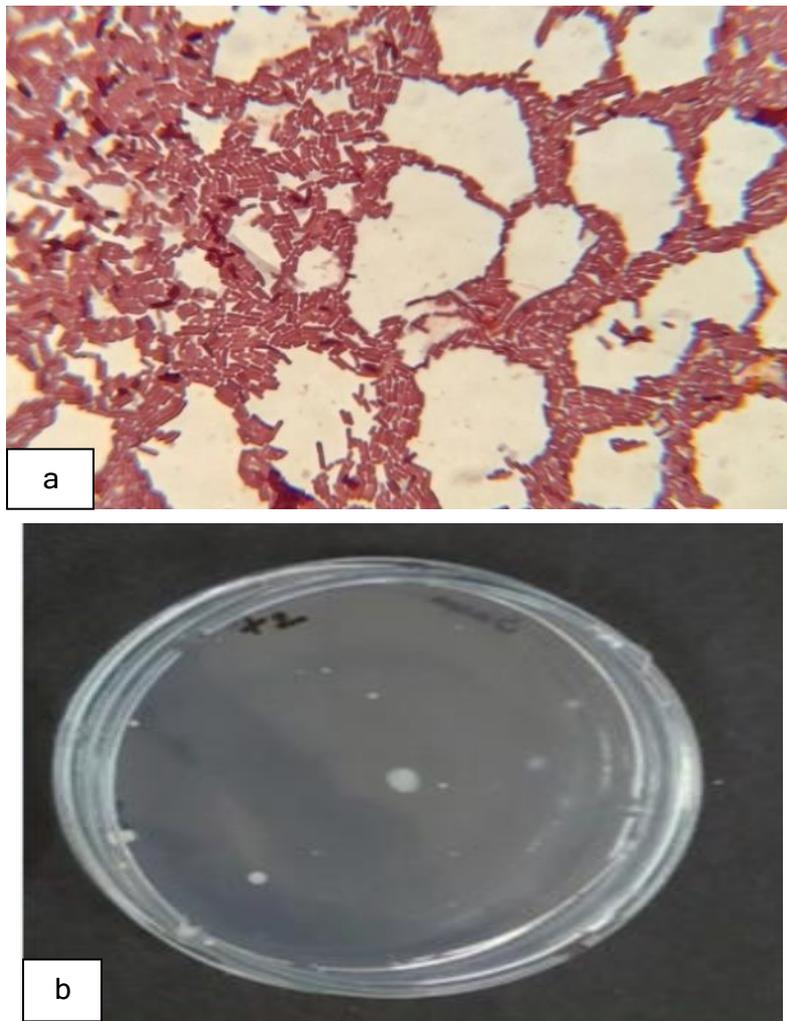


Photo 3. Souche T.

- a) Observation microscopique après coloration de Gram (G X400)**
- b) Observation macroscopique du test de mobilité.**

La souche B3 se présente sous forme de colonie blanche, ronde, bombée, crémeuse, avec une grande taille et des bords réguliers après 10 jours d'incubation sur un milieu R2As additionnée de NH_4Cl à 22°C . La souche B3 est une bactérie à Gram négatif (Figure 4-a), Mannitol-mobilité-, TSI+, et se présente sous forme de bacilles mobiles, avec un type de mobilité « Swarming » (Figure 4-b).

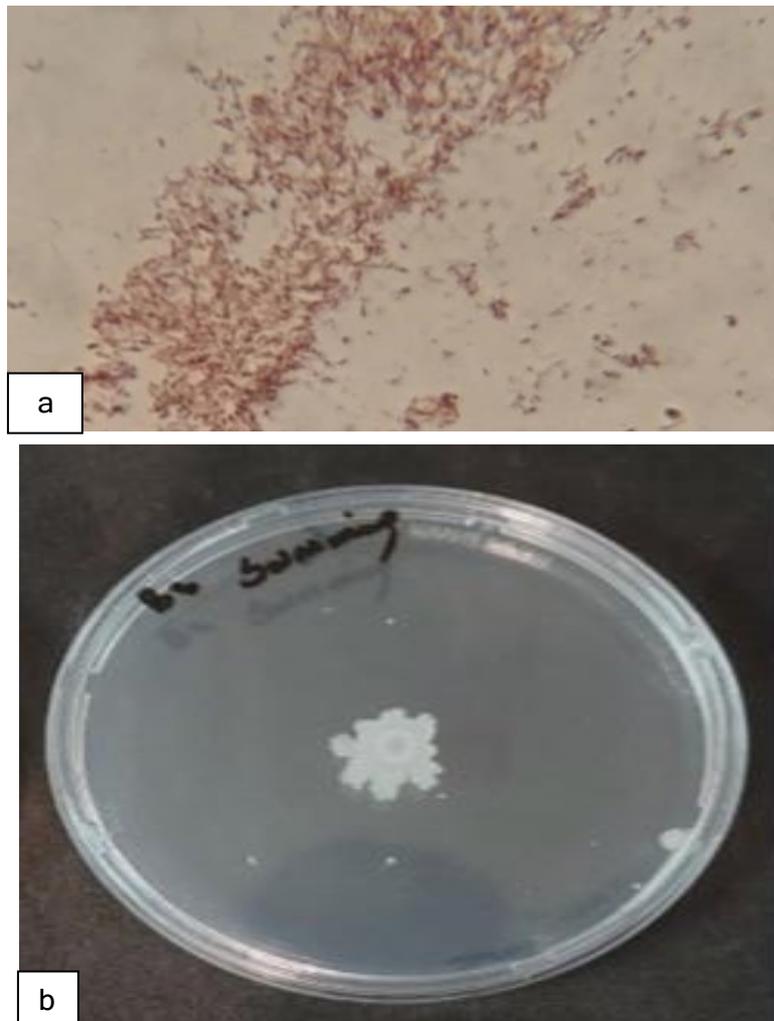


Photo 4. Souche B3.

- a) Observation microscopique après coloration de Gram (G X400)**
- b) Observation macroscopique du test de mobilité.**

La souche OR se présente sous forme de colonie orange claire, ronde, adhérentes à la gélose (collantes), crémeuse, avec une grande taille et des bords irréguliers, après 10 jours d'incubation sur un milieu R2As additionnée de NH_4Cl à 22°C . La souche OR est une bactérie à Gram négatif (Figure 5-a), Mannitol- mobilité-, TSI-, et se présente sous forme de bacilles mobiles, avec un type de mobilité « Swarming » (Figure 5-b).

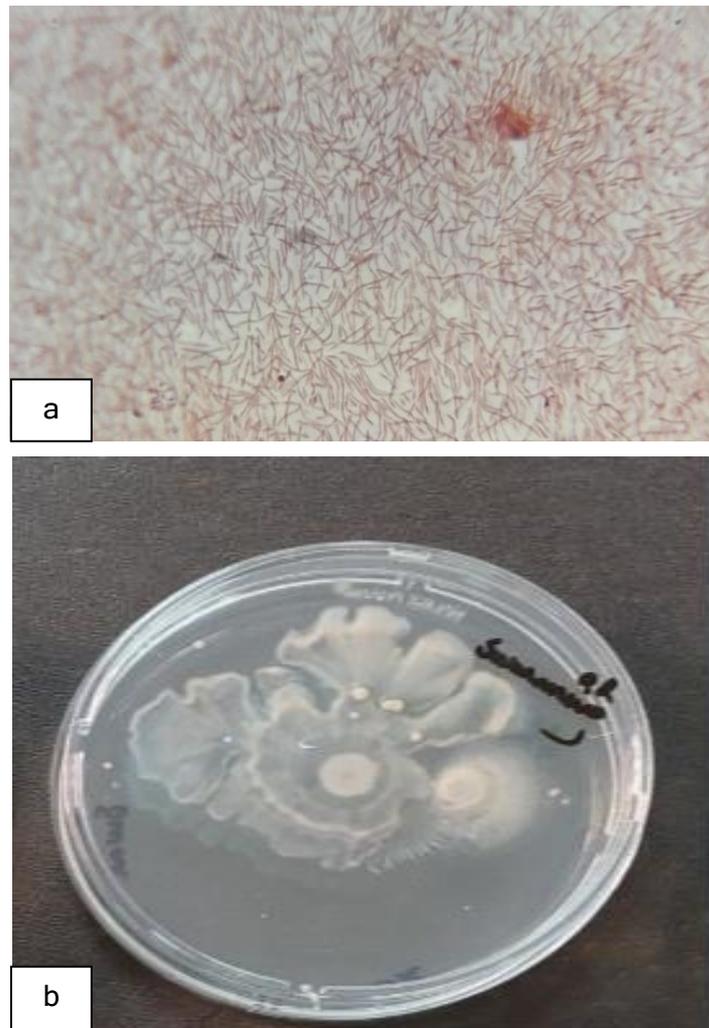


Photo 5. Souche OR.

- a) Observation microscopique après coloration de Gram (G X400)**
- b) Observation macroscopique du test de mobilité.**

Discussion

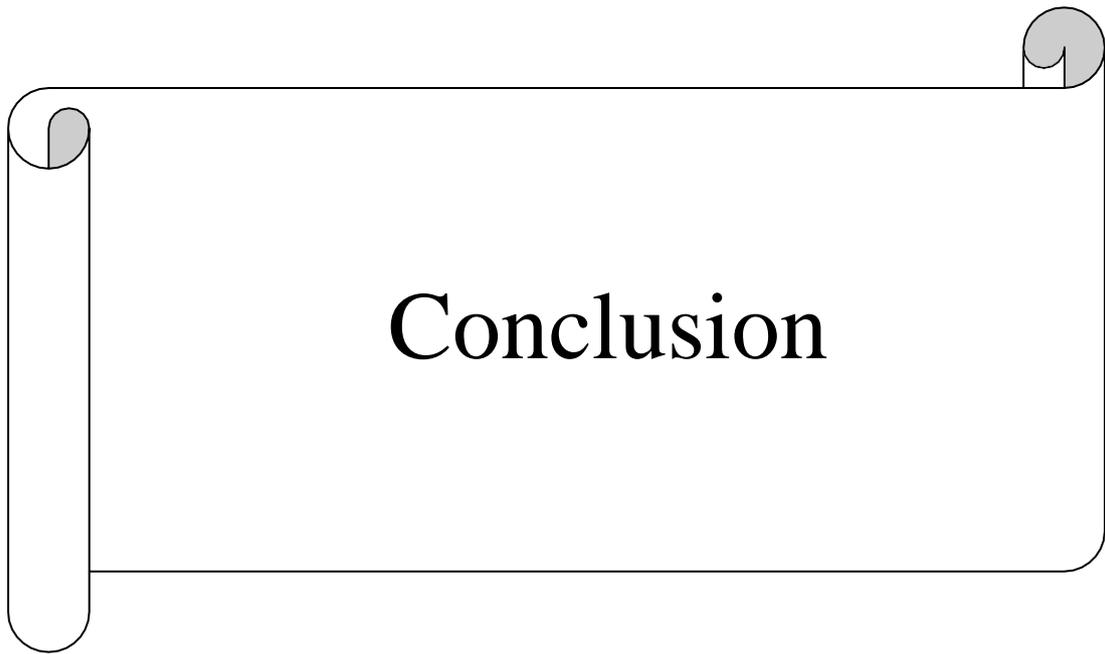
Pour les souches B1, B2 et T, les caractères morphologiques, les tests biochimiques réalisés ainsi que l'observation microscopique semblent être insuffisants pour orienter l'identification bactérienne. L'identification de ces bactéries nécessite le recours aux techniques moléculaires en tant qu'outils de l'écologie microbienne aquatique. En effet, ces techniques ont apporté de nouvelles connaissances sur la structure et la dynamique de la communauté des bactéries marines. La plupart des études ont utilisé des approches de gènes d'ARNr 16S et ont révélé une structure de communauté bactérienne complexe avec de nouvelles lignées de gènes dans la mer **(Moeseneder et coll., 2005)**.

En ce qui concerne la souche B3, les résultats d'identification nous permettent d'orienter l'identification vers le genre *Roseovarius sp.* Ce genre est un membre de la famille *Rhodobacteraceae*, la classe des *Alphaproteobacteria* **(Labrenz et coll., 1999)**. Les *Roseovarius* sont l'un des principaux groupes bactériens. Ils sont halotolérants et se développent dans divers habitats marins **(Buchan et coll., 2019)**. Ils sont caractérisés par un potentiel élevé de dégradation des polluants organiques écotoxiques répandus dans le milieu marin ce qui offrirait une perspective de développement dans la bioremédiation de la contamination aromatique marine **(Zhang et coll., 2022)**.

En ce qui concerne la souche OR, les résultats d'identification nous permettent d'orienter l'identification vers le genre *Flavobacterium sp.* Ce genre appartient à la famille *Flavobacteriaceae*, la classe des *Falvobacteria*. Les membres du genre *Flavobacterium* sont largement distribués dans les environnements marins froids **(Vela et coll., 2007)**, ce qui laisse penser que ces bactéries produisent des enzymes qui leur permettent de s'adapter aux basses températures. Ces enzymes pourraient présenter un intérêt biotechnologique **(Kazuoka et coll., 2007)**.

Les colonies de *Flavobacterium* sont colorées en orange. Cette couleur est due à la présence de pigments de type caroténoïdes ou flexirubines selon les espèces. En effet, au sein du genre *Flavobacterium*, on retrouve des organismes produisant des caroténoïdes ou des flexirubines ainsi que des espèces produisant les deux types de pigments **(Bernadet et coll., 1996)**. Toutes les souches sont dépourvues de flagelle, cependant une mobilité par glissement est observée pour les souches de la plupart

des espèces (**McBride, 2004**). Les espèces du genre *Flavobacterium* présentent une croissance en conditions aérobies et la plupart peuvent être considérés comme mésophiles. Toutefois, plusieurs espèces sont psychrophiles (**Barbier et coll., 2013**). Bien que l'halophilie ne soit pas une caractéristique des espèces du genre, certaines espèces isolées de milieux marins peuvent être considérées comme des halotolérantes (**Trappen, 2004**).

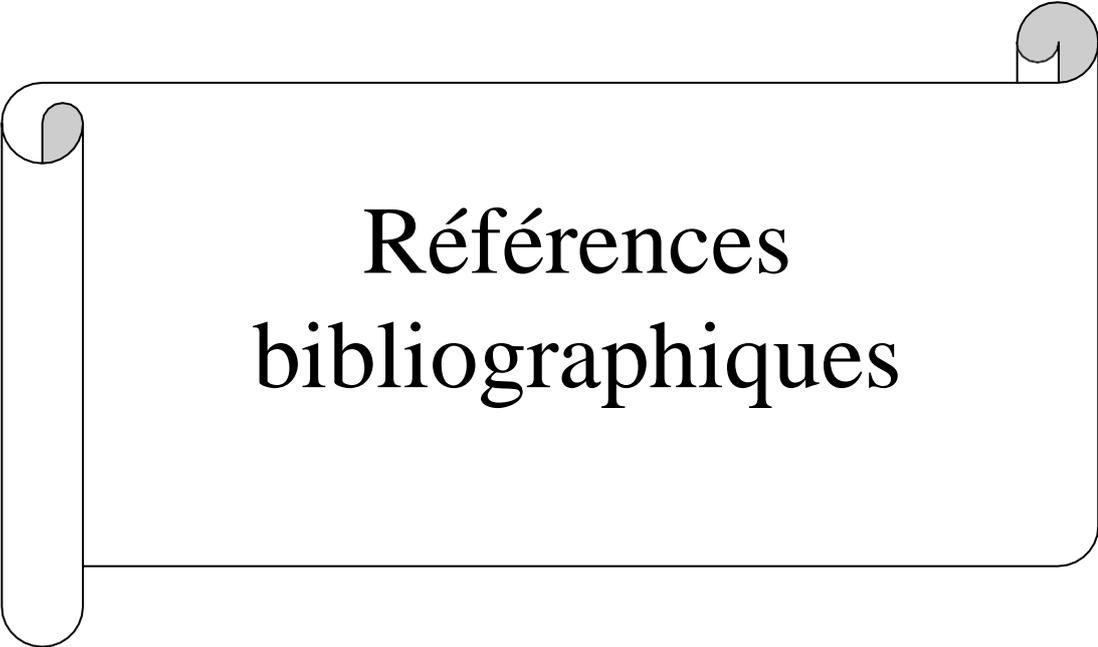


Conclusion

Il ressort de cette étude que :

- Cinq souches sont sélectionnées sur la base des caractères morphologiques
- L'étude de la mobilité permet de montrer que trois souches (B1, B3, OR) se déplacent par Swarming, une souche (B2) par Twitching et une souche (T) est immobile.
- Les résultats d'identification permettent d'assigner deux souches (B3 et OR) aux genres *Roseovarius* et *Flavobacterium* respectivement
- Les résultats d'identification des souches (B1, B2, T) sont insuffisants pour orienter l'identification bactérienne.
- Le recours aux techniques de biologie moléculaire est indispensable à l'identification des bactéries marines

Malgré l'importance des bactéries marines, elles restent en grande partie méconnues et sous-étudiées. De nombreuses espèces bactériennes marines n'ont pas encore été identifiées et caractérisées, ce qui laisse un vaste domaine de recherche à explorer.



Références
bibliographiques

1. Agogué Hélène. Diversité des bactéries de la microcouche de surface de l'eau de mer : spécificité, adaptation et résistance aux radiations solaires. Biodiversité et Ecologie. UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1, 2004. Français. ffNNT : ff. fftel-01102954
2. Akretche K. D. E., & Larbot, A. (2004). Purification of water effluent from a milk factory by ultrafiltration using Algerian clay support. *Desalination*, 167, 147-151.
3. Balny, C., Masson, P., Heremans, K (2002). High pressure effects on biological macromolecules: from structural changes to alteration of cellular processes. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1595(1N2), 3–10.
4. Barbier Paul Novembre 2013 Diversité génomique des espèces bactériennes du genre *Flavobacterium* l'Université d'Evry Val d'Essonne Discipline ou Spécialité : Génomique / Biologie Cellulaire et Moléculaire
5. Ben Belkacem, M., & Belaid, M. A. (2013). *Contribution à l'étude de régénération des membranes et des filtres à laine d'une station de dessalement de l'eau de mer* (Doctoral dissertation, UMMTO).
6. Bernardet J., P. Segers, M. V. Eyt, and F. Berthe, "Cutting a Gordian Knot : Emended Classification and Description of the Genus *Flavobacterium* , Emended Description of the Family Flavobacteriaceae , and Proposal of *Flavobacterium hydatis*," *International Journal of Systematic Bacteriology*, no. 85, pp. 128– 148, 1996.
7. Boeuf Dominique. importance écologique des bactéries photohétérotrophes dans l'océan arctique. Biodiversité et Ecologie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2013. Français. NNT : . tel-00830741 juin 2013
8. Bowers, J. K., Mesbah, M. N. and Wiegand, J. (2009). Biodiversity of polyextremophilic Bacteria: Does combining the extremes of high salt, alkaline pH and elevated temperature approach a physico-chemical boundary for life. *Saline Systems*, 5: 9-16.
9. Boyé, Henri. "Dessalement de l'eau de mer, une ressource alternative." (2009): 60-65.

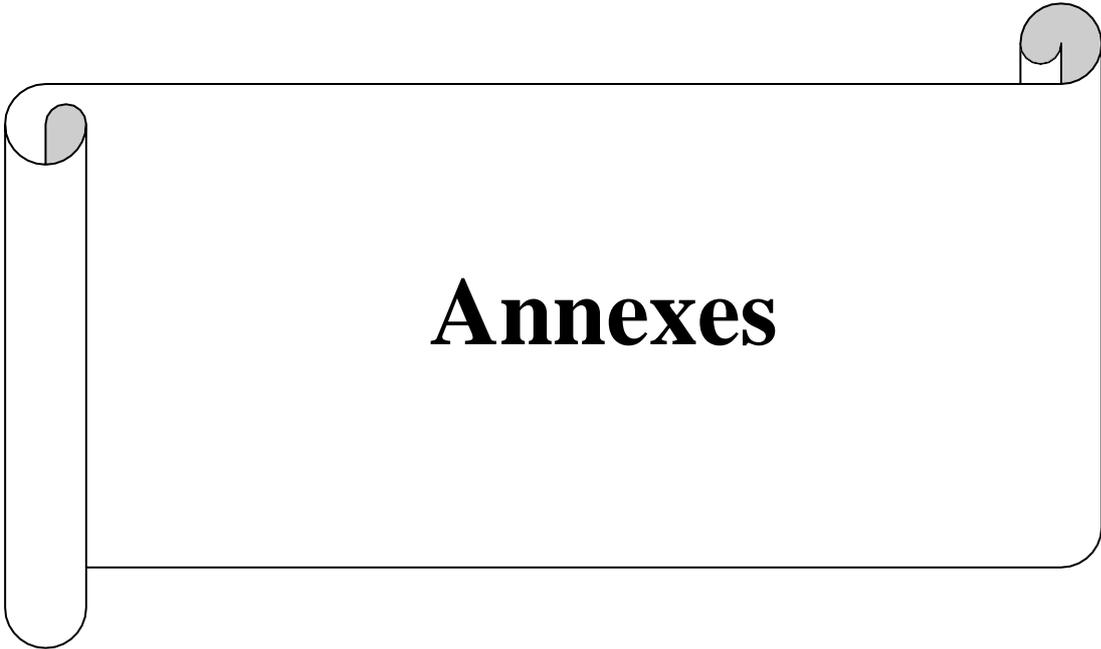
10. Brian-Jaisson, F., Ortalo-Magné, A., Guentas-Dombrowsky, L., Armougom, F., Blache, Y., & Molmeret, M. (2014). Identification of bacterial strains isolated from the Mediterranean Sea exhibiting different abilities of biofilm formation. *Microbial ecology*, 68, 94-110.
11. McBride M. J., "Cytophaga-Flavobacterium Gliding Motility," *Journal of Molecular Microbiology Biotechnology*, vol. 7, pp. 63–71, 2004. [19] S.
12. Brisou J. F., *Microbiologie du milieu marin. Edition Médicale Flammarion*, 1995
13. Buchan A, Gonzalez JM, Moran MA (2005). Overview of the marine *Roseobacter* lineage. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 5665-5677.
14. Buchan, A., González, J.M., Chua, M.J. (2019). Aerobic Hydrocarbon-Degrading Alphaproteobacteria: Rhodobacteraceae (Roseobacter). In: McGenity, T. (eds) *Taxonomy, Genomics and Ecophysiology of Hydrocarbon-Degrading Microbes. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-14796-9_8
15. Cherif lamia ep Nebbache (2018) étude comparative sur le prétraitement des eaux saumâtre par la coagulation-floculation-décantation et l'ultrafiltration.
16. Centre de l'information sur l'eau, BRGM. (2011) quelle sont les ressources en eau dans le monde ? France.
17. Collins S, D'Amico,., , T., Marx, J.C., Feller, G., and Gerday, C. (2006) Psychrophilic microorganisms: challenges for life. *EMBO Rep* 7: 385-389.
18. Crini., G et Batod., M, (2007). Traitement et épuration des eaux industrielles polluée : procédés membranaires, bio adsorption et oxydation chimique.
19. Dahmani fatima zohra Etude computationnelle de la déminéralisation des eaux par osmose inverse 21 juin 2017.
20. Debabza, M. (2005). Analyse microbiologique des eaux des plages de la ville d'Annaba Evaluation de la résistance aux antibiotiques des microorganismes pathogènes. *Université Badji-Mokhtar-Annaba*. 85p.
21. Echigo, A., Hino, M., Fukushima, T., Mizuki, T., Kamekura, M. and Usami¹, R. (2005). Endospores of halophilic bacteria of the family Bacillaceae isolated from non-saline Japanese soil may be transported by Kosa event (Asian dust storm). *Saline Systems*, 8: 1-13.

22. Feller, G., & Gerday, C. (2003). Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation. *Nature reviews microbiology*, 1(3), 200-208.
23. Fenical W (1993) Chemical studies of marine bacteria: developing a new resource. *Chemical Reviews* 93:1673-1683.
24. Goosen M.F.A., H. AlHinai, S.S. Sablani, Capacity building strategies for desalination: Activities, facilities and educational programs in Oman, *Desalination* 141 (2001) 181-190
25. Hammadouche (2003) Interactions des bactéries marines responsables de la formation des biosalissures avec des matériaux biospécifique Pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université Paris XIII.
26. Harshey, R. M. (2003). Bacterial motility on a surface: many ways to a common goal. *Annual Reviews in Microbiology*, 57(1), 249-273.
27. Joo, W. A. and Kim, C. W. (2005). Proteomics of halophilic archaea. *Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 815: 237-250.
28. Kazuoka, T. Oikawa, I. Muraoka, S. Kuroda, and K. Soda, "A cold-active and thermostable alcohol dehydrogenase of a psychrotolerant from Antarctic seawater, *Flavobacterium frigidimarum* KUC-1," *Extremophiles*, vol. 11, no. 2, pp. 257-267, 2007.
29. Kehal S. (2001). Rétrospective et perspective du dessalement en Algérie. *Desalination*, 136 (1-3), 35-42.
30. Kirchman DL (2002). The ecology of *Cytophaga-Flavobacteria* in aquatic environments. *FEMS Microbiology Ecology* 39: 91-100.
31. Labrenz, M., Collins, M. D., Lawson, P. A., Tindall, B. J., Schumann, P., & Hirsch, P. (1999). *Roseovarius tolerans* gen. nov., sp. nov., a budding bacterium with variable bacteriochlorophyll a production from hypersaline Ekho Lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(1), 137-147.
32. Lassalle Louise (2014), Bases moléculaires de l'adaptation piézophile : études structurales et biochimiques d'enzymes clés du métabolisme provenant

- d'archées et de bactéries isolées dans les fonds marins.
33. Maafa aida Septembre (2020) dessalement d'eau de mer Option : Hydraulique Urbaine & Technique des eaux : 13-20.
34. Magot M., Introduction à la microbiologie des bactéries, dans Lemaitre C., Pébère , et Festy N (eds) : Biodétérioration des matériaux. (EDP Sciences), 1998, Chapitre 227-46
35. Mattick, JS (2002). Pili de type IV et motilité par secousses. *Revue annuelle en microbiologie* , 56 (1), 289-314.
36. Maurel Alain, « Dessalement de l'eau de mer et des eaux saumâtres et d'autres procédés non conventionnels d'approvisionnement en eau douce », 2006, 2^{ème} édition.
37. Meersman, F., Daniel, I., Bartlett, D. H., Winter, R., Hazael, R., & McMillan, P. F. (2013). High N Pressure 245 Biochemistry and Biophysics. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 75(1), 607–648. doi:10.2138/rmg.2013.75.19
38. Méricq Jean Pierre le 9 décembre 2009 Approche intégrée du dessalement d'eau de mer : Distillation membranaire sous vide pour la réduction des rejets salins et possibilités de couplage avec l'énergie solaire.
39. Moeseneder MM, Arrieta JM, Herndl GJ (2005) A comparison of DNA- and RNA-based clone libraries from the same marine bacterioplankton community. *FEMS Microbiol Ecol* 51:341–352
40. Monnot, M. (2015). *Conception d'une filière intensifiée par membrane pour le dessalement autonome d'eau de mer: étude du prétraitement et de son effet sur le biocolmatage* (Doctoral dissertation, INSA de Toulouse).
41. Neidhardt F. C., Ingraham J. L., Schaechter M., Physiology of the bacterial cell, a molecular approach
42. Ruppé, É., Woerther, PL, & Barbier, F. (2015). Mécanismes de résistance aux antimicrobiens chez les bacilles à Gram négatif. *Annales de soins intensifs* , 5 (1), 1-15.
43. Sadi, A. (2000). Le Dessalement Solaire-Considérations Techniques. *Centre de Développement des Energies Renouvelables, Bouzareah. Alger, rapport.*

44. Salomon, J. (2012). Le dessalement de l'eau de mer est-il une voie d'avenir? *Revue de Géographie et aménagement du territoire*, n° 1 (juin). Centre
45. Simon, M., Grossart, H.P., Schweitzer, B., Ploug, H., 2002. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquat. Microb. Ecol.* 28, 175–211. doi:10.3354/ame028175
46. Tansakul, C. (2009). *Procédés hybrides à membranes pour le prétraitement d'eau de mer avant dessalement par osmose inverse* (Doctoral dissertation, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse).
47. Trappen Van, "Flavobacterium degerlachei sp. nov., Flavobacterium frigoris sp. nov. and Flavobacterium micromati sp. nov., novel psychrophilic bacteria isolated from microbial mats in Antarctic lakes," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 54, no. 1, pp. 85–92, Jan. 2004.
48. Vela,¹ A. Fernandez,² C. Sa´nchez-Porro,³ E. Sierra,² M. Mendez,² M. Arbelo,² A. Ventosa,³ L. Dom´ınguez¹ and J. F. Fern´andez-Garayza´bal Flavobacterium ceti sp. nov., isolated from beaked whales (*Ziphius cavirostris*) *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (2007), 57, 2604–2608 DOI 10.1099/ijs.0.65154-0
49. Viviane Renaudin (Maître de conférences au Département Génie Chimique, Génie des Procédés de l'IUT de Nancy Brabois, Université Henri Poincaré et chercheur au LSGC (Laboratoire des Sciences du Génie Chimique), CNRS, Nancy), relu par Guillaume Champion (professeur agrégé à l'ENS). Cet article fait partie du dossier pluridisciplinaire sur l'eau, consulté le 22/12/2014.
50. Zhang Hang, Jun-De Dong, You-Shao Wang, Ji-Dong Gu, Jian-Ping Yin, Manzoor Ahmad, La génomique comparative met en évidence le potentiel de dégradation des hydrocarbures aromatiques du genre *Roseovarius* en milieu marin Yu- Juan Ling *International Biodétérioration & Biodégradation*. **Tome 171**, juillet 2022, 105408
51. Zinger L, Amaral-Zettler LA, Fuhrman JA, Horner-Devine MC, Huse SM, Welch DBM *et al* (2011). Global patterns of bacterial beta-diversity in seafloor and seawater ecosystems. *PLoS ONE* 6: e24570.

52. Zizi nabila (2013) Station de dessalement de l'eau de mer en Algérie : choix des sites prioritaires, les techniques utilisées et leurs impacts positifs et négatifs sur leur environnement immédiat.



Annexes

Annexe 1. Composition de milieu R2A salé additionné de Nh_4Cl .

R2A	Nh4Cl	Eau de mer artificielle	Eau distillé
18,2g	0,534g	750ml	250ml