



UNIVERSITE  
Abdelhamid Ibn Badis  
MOSTAGANEM

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem  
Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie  
Département de Biologie



# Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE**

**Spécialité : Génétique Fondamentale et Appliquée**

Par

**Benaïed Hakima**

&

**Boudraf Halima**

Thème :

***TITRE : Contribution à la valorisation technologique de la microflore de la zone humide de la Macta***

Soutenue le 10/06/2024 devant le jury composé de :

<b>Président</b>	<b>CHOGRANI FADHELA</b>	<b>Professeur</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
<b>Encadreur</b>	<b>BEKENNICHE NAHLA</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
<b>Examineur</b>	<b>BRAHAMI NABILA</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Mostaganem</b>

**Année Universitaire : 2023/2024**

# REMERCIEMENT



Remerciant tout d'abord Dieu tout puissant de nous avoir donné la force de réaliser ce travail. Nous voudrions exprimer notre profond remerciement à notre encadreur Mme BEKENNICHE Nahla qui a bien voulu diriger ce travail, et pour ses orientations, ses aides et ses précieux conseils qui nous avons permis de bien mener ce travail.

Nous remercions également nos collègues qui nous ont beaucoup aidé dans ce travail. Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements à Mme Chograni Fadhela qui nous a fait l'honneur de présider le jury d'évaluation de notre travail.

Nos vifs et sincères remerciements vont aussi à Mme Brahami Nabila d'avoir eu l'amabilité d'accepter d'être membre de jury de ce travail.

Sans oublier de remercier tous les enseignants du département biologie qui nous ont transmis le goût de l'étude.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.





*Dédicace*

*A mon père et à ma mère; Nulles dédicaces ne peuvent exprimer ce que je leur dois, par leur prière, leurs patiences en moi, ils ont tous fait pour mon bonheur et ma réussite. Qu'ils veillent trouve dans ce travail le fruit de leurs sacrifices illimités et la preuve de mon amour et de ma gratitude éternelle. A mes chers frères et ma sœur*

*A nos familles A nos chers amis pour vos encouragements, votre amour ainsi que pour les moments inoubliables qu'on a vécu ensemble durant cette année. Bonne chance pour vous aussi. Et enfin nous espérons que ce rapport donnera satisfaction à toutes les personnes qui auront l'occasion de le lire*

*Boudraf Halima*



# DÉDICACE

JE DÉDIE CE TRAVAIL:

A MA CHÈRE MÈRE ET à MON CHER PÈRE QUI N'ONT  
JAMAIS  
CESSÉ DE ME SUPPORTER, ME SOUTENIR ET M'ENCOURAGER  
DURANT

MES ANNÉES D'ÉTUDES. QU' ILS TROUVENT ICI LE  
TÉMOIGNAGE DE MA  
PROFONDE GRATITUDE ET RECONNAISSANCE.

A MES FRÈRES, MES SŒURS ET QUI ME DONNENT DE  
L'AMOUR  
ET DE LA VIVACITÉ.

A TOUS MES AMIS QUI M'ONT TOUJOURS ENCOURAGÉ.

MERCI !

BENAIED HAKIMA

## **Résumé :**

Ce travail préliminaire qui a fait l'objet d'une étude « éco-bactériologique et enzymatique de la zone humide ( du Macta) nous a permis d'isoler et de cribler 3 souches bactériennes appartenant aux différentes familles celles d'entre eux doté d'une activité enzymatique polysaccharolytique « Amylolytique, Cellulolytique, Pectinolytique » assez distinctives.

Les mesures des paramètres physico-chimique comme la T°, pH, CE, ont été ont été contrôlé.

La caractérisation bactériologique ainsi la confirmation de la pureté des souches isolées ont été contrôlé en se basant sur leur caractères morphologiques (aspect coloniale) ainsi que les examens microscopiques classiques « examen à l'état frais » et « coloration de gram » en suite ils ont été identifiées par des tests biochimiques et des tests enzymatique.

Ainsi que l'exposition des bactéries à la lumière ultraviolette, ce qui les a amenées à se modifier, et nous avons remarqué des changements chez certaines d'entre eux dans leur type respiratoire et l'utilisation des molécules comme le citrate. D'autre tests doivent être élaborer pour comprendre le fonctionnement et la résistance des micro-organismes dans les zones humides.

**Mots clés :** Les zones humides, Macta, Micro-organismes, Valorisation, UV.

## ملخص

سمح لنا هذا العمل التمهيدي الذي كان موضوع "دراسة بيئية بكتريولوجية وأنزيمية لأراضي الرطبة(المقطع) من عزل و فحص نحو 3 سالالت بكتيرية تنتمي الى اجناس مختلفة مع تميزها بالنشاط النزيمي المحلل النشائي و السليلوزيو البكتيني تم رصد القياسات الخاصة بالعوامل الفيزيائية والكيميائية مثل درجة الحرارة و درجة الحموضة و الناقلية الكهربائية  
تم التحكم في التوصيف البكتريولوجي وكذلك التأكد من نقاوة السالالت المعزولة بناء على صفاتها المورفولوجية (المظهر الاستعماري) وكذلك الفحص المجهرى الكالسيكي "الفحص الطازج" و"التلوين الجرام" ثم تم تشخيصها عن طريق الاختبارات الكيموحيوية. والختبارات الأنزيمية وكذلك تعريض البكتيريا لأشعة فوق البنفسجية مما أدى إلى تغيرها، وقد حظنا بتغيرات لدى بعضها في نوع تنفسها واستخدام جزيئات مثل السيترات. ويجب تطوير اختبارات أخرى لفهم عمل الكائنات الحية الدقيقة ومقاومتها في المناطق الرطبة

**الكلمات المفتاحية :** الأراضي الرطبة، ماكتا، الكائنات الحية الدقيقة، التثمين، الأشعة فوق البنفسجية

## **Abstract :**

This preliminary work which was the subject of an “eco-bacteriological and enzymatic study of the wetlands (Macta) allowed us to isolate and screen 3 bacterial strains belonging to different families those of them endowed with a fairly distinctive “Amylolytic, Cellulolytic, Pectinolytic” polysaccarolytic enzymatic activity.

The measurements of physicochemical parameters such as T°, pH, EC, were monitored.

The bacteriological characterization as well as the confirmation of the purity of the isolated strains were controlled based on their morphological characters (colonial appearance) as well as the classic microscopic examinations "fresh examination" and "gram staining" then they were been identified by biochemical tests and enzymatic tests.

As well as exposing the bacteria to ultraviolet light, which caused them to change, and we noticed changes in some of them in their respiratory type and the use of molecules like citrate. Other tests must be developed to understand the functioning and resistance of microorganisms in humid areas.

**Key words:** Wetlands, Macta, Micro-organisms, Valorization, UV.

## Les abréviations

C° : DegréCelsius

ADE : Algérien des eaux

H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> : Ion hydronium

μS/cm : micro siemens par centimètre

H<sub>2</sub>O : Eau

CO<sub>2</sub> : le dioxyde de carbone

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'hydrogène

NO<sup>-3</sup>/NO<sup>-2</sup> : Nitrate

T° : Température

% : pourcentage

GN : Gélose nutritive

BN : Bouillon nutritif

nm : Nano mètre

H<sup>2</sup>S : Sulfure d'hydrogèneS

: Sensible

R : Résistante

M : Mètre

N :Nord

E : Este

ha :Hectare

pH : Potentiel d'hydrogène



ADN : Acide désoxyribonucléique

E. coli : Escherichia coli

NTU : Nephelometric Turbidity Unit

CE : La conductivité électrique ADH :

l'arginine-dihydrolase

LDC : la lysine-décarboxylase

ODC : l'ornithine-décarboxylase

rpm : rotation par minute.

TSI : Triple Sugar Iron

UV : ultraviolets

VF : viande foie

VP : Voges-Proskauer

MH : Mueller Hinton

## Liste des tableaux

Tableau 1. Liste des antibiotiques testés sur les isolats.	23
Tableau 2. Résultats des analyses physico-chimique	26
Tableau 3. Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de la zone humide Macta	26
Tableau 4. Aspect macroscopique des colonies.	27
Tableau 5. Mobilité des isolats étudiés	28
Tableau 6. Résultats de la coloration de Gram des isolats étudiés.	29
Tableau 7. Résultats de test catalase	31
Tableau 8. Résultats de test viande foie	32
Tableau 9. Résultats de test Citrate de Simmons	34
Tableau 10. Résultats de test TSI	35
Tableau 11. Résultat de test MEVAG	37
Tableau 12. Résultats de test LDC et LDH	38
Tableau 13. Diamètre de la zone d'inhibition des antibiotiques en contact direct avec les isolats	43
Tableau 14. Profil d'antibiorésistance des isolats	43
Tableau 15. Résultats des tests biochimiques et enzymatique	43
Tableau 16. Résultats de coloration de gram après UV	45
Tableau 17. Résultats de test de mannitol mobilité de l'isolat HH2 Après UV	46
Tableau 18. Résultats de test TSI après UV	48
Tableau 19. Résultats de test Citrate de Simmons après UV	49

<b>Les figures</b>	
Figure 01: Carte pédologique de la zone Macta.....	4
Figure 02: Les zones humides dans littorales du Bassin Mediterranean.....	5
Figure 03: Les type des zones humides rencontrées le long d'un bassin versant.....	6
Figure 04: Les mutation causes par L'UV .....	13
Figure 05 : Echantillon d'eau de la zone de la Macta.....	14
Figure 06: Carte de localisation de la Macta.....	15
Figure 07 : Rampe de filtration.....	16
Figure 08 :Photo d'appériel Turbidimètre.....	17
Figure 09 : Appereil de mesure de conductivité.....	18
Figure 11: Schéma présenté la technique de coloration de Gram.....	20
Figure 12 : Schéma présenté la technique de tests de la catalase.....	24
Figure 13 :Appereil à UV caution ultra-violet radiation obligatory eye protection....	25
Figure 14: Aspect macroscopique de HH2.....	27
Figure 15: Aspect macroscopique de HH1 .....	27
Figure 16 : Aspect macroscopique de HH6.....	27
Figure 17 : Aspect macroscopique de HH4.....	27
Figure 18 : Aspect macroscopique de HH7.....	28
Figure 19 : Aspect macroscopique de HH5.....	28
Figure 20 :Aspect macroscopique de HH3.....	28
Figure 21 : Résultats de coloration de spores.....	31
Figure 22 : Résultats de test de Nitrate.....	32
Figure 23 : Résultats de test viande foie ( HH5, HH2, HH3 ).....	33
Figure 24 : Résultats de test de Mannitol mobilité ( HH5,HH2,HH3).....	34
Figure 25 : Test TSI (HH3, HH2, HH5 ).....	35
Figure26. test Clark &Lubs.....	36
Figure27. test MEVAG.....	37
Figure28. Test LDC ET LDH.....	38
Figure29. résultats de KingB(HH5,HH2,HH3 ).....	38
Figure30.Résultats de King A (HH5, HH2, HH3).....	39
Figure 31.résultats de test d'estérase.....	39
Figure 32. Résultats de test de l'écithinase.....	40

Figure33.résultats de test de gélatinase.....	40
Figure.34 : test de lipase.....	41
Figure35. Résultats de test de l'amidon.....	41
Figure 36.Résultats de test de pectine.....	42
Fig37 : test de résistance aux antibiotiques .....	42
Figure38.Résultats de test mannitol mobilité après UV (4s,40s,2min,3min).....	46
Figure39. Résultat de test nitrate réductase après UV.....	47
40 Figure40. Résultats de test TSI après UV.....	47
Figure 41 Résultats de test Citrate de Simmons après UV.....	49

## Table des matières

Dédicace

Remerciement

Liste Abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Partie I : Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Généralité sur Les zones humide</b>	
<b>2. La zone de La Macta.....</b>	<b>3</b>
<b>2. L'importance de La zone humide.....</b>	<b>3</b>
<b>3. Caractéristiques des zones humides de mer Méditerranée.....</b>	<b>4</b>
<b>4. Caractéristiques Générales des zones humides.....</b>	<b>6</b>
<b>5. La fonction écologique des zones humides.....</b>	<b>7</b>
<b>a. L'hydrologie.....</b>	<b>7</b>
<b>b. Biologique.....</b>	<b>7</b>
<b>c. Climatique.....</b>	<b>7</b>
<b>d. Les fonctions économiques.....</b>	<b>7</b>
<b>Chapitre II: Valorisation de microoragnismes de la zone Macta</b>	
<b>1. Définition des microorganismes.....</b>	<b>8</b>
<b>2. Les microorganismes dans les zones humides .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1. Effets physiques et chimiques sur les micro-organismes des zones humides.....</b>	<b>8</b>
<b>2.1.1. Effet climatique.....</b>	<b>8</b>
<b>2.1.2. Effet de la salinité.....</b>	



a. Changement dans la composition des communautés microbiennes...	9
b. Effet sur l'accumulation et rôle des déchets microbiens.....	9
c. La diversité microbienne et sa fonction.....	9
d. Dominance des microbes adaptés au sel.....	10
2.1.3. L'effet des précipitations.....	10
2.1.4. Effet de pH.....	10
2.1.5. L'effet de l'acidité.....	10
➤ Modification de la biodiversité microbienne.....	10
➤ Altération des processus microbiens.....	11
➤ Réduction de la disponibilité des nutriments.....	11
➤ Impact sur la structure du sol.....	11
➤ Influence sur les interactions symbiotiques.....	11
3. La valorisation des micro-organismes dans les zones humides.....	11
4. Contribution des microbienne à la rénovation de la zone humide.....	11
5. Le rôle d'UV chez les bactéries présent dans les zones humides.....	12
6. L'effet des rayons ultraviolets sur les bactéries présentes dans les zones humides.	12
7. Mutation causées par les UV.....	12
<b>Partie II : Synthèse expérimentale</b>	
<b>Chapitre I : Matériel et méthode</b>	
1. L'échantillonnage.....	14
2. Lieu d'échantillonnage.....	14
3. Traitement de l'échantillon dans l'ADE.....	15
3.1.    Laboratoire bactériologique.....	15
3.2.    Les analyses Bactériologique.....	15
3.3.    Analyses physico-chimique.....	
a. La turbidimètre.....	16
b. La salinité.....	17
c. Le Ph.....	17
d. Le température.....	17
e. La conductive.....	17
4. Pratique au laboratoire pédagogique de l'université de MOSTAGANEM.....	18
4.1.    Isolment et Purification.....	

<b>4.2.</b>	<b>Conservation.....</b>	
<b>5.</b>	<b>Identification des bactéries.....</b>	<b>18</b>
<b>5.1.</b>	<b>Observation Macroscopique.....</b>	<b>841</b>
<b>5.2.</b>	<b>Observation Microscopique.....</b>	
	<b>a. Observation à l'état frais.....</b>	<b>19</b>
	<b>b. Coloration de Gram.....</b>	<b>19</b>
	<b>c. Coloration de spores.....</b>	<b>20</b>
<b>5.3.</b>	<b>Les tests Enzymatique.....</b>	<b>20</b>
	<b>5.3.1. Test LDC et ADH.....</b>	
	<b>5.3.2. Test MEVAG.....</b>	
	<b>5.3.3. Test Gélatinase.....</b>	
	<b>5.3.4. Test de dégradation de l'amidon.....</b>	
	<b>5.3.5. Test Lécithinase.....</b>	
	<b>5.3.6. Test Lipase.....</b>	
	<b>5.3.7. Test Estirase.....</b>	
	<b>5.3.8. Culture Milieu Spécifique : King A et King B.....</b>	
	<b>5.3.9. Test Pictine .....</b>	
<b>5.4.</b>	<b>Antibiogramme.....</b>	
<b>5.5.</b>	<b>Les Tests Biochimique.....</b>	
	<b>5.5.1. Le mannitol-mobilité.....</b>	
	<b>5.5.2. TSI (Tripl Sugar Iron Agram).....</b>	
	<b>5.5.3. Test Citrate de Simmon.....</b>	
	<b>5.5.4. Clark &amp; Lubs.....</b>	
<b>5.6.</b>	<b>Les tests Respiratoire.....</b>	
	<b>5.6.1. Test Catalase.....</b>	
	<b>5.6.2. Test Réduction du Nitrate.....</b>	
	<b>5.6.3. Test sur Milieu Viande Foie.....</b>	
<b>6.</b>	<b>UV sur Isolat.....</b>	<b>25</b>
<b>Chapitre II : Résultats et Discussion</b>		
<b>1.</b>	<b>Analyses physico-chimique.....</b>	<b>26</b>
<b>2.</b>	<b>Résultats Bactériologiques.....</b>	<b>26</b>

<b>3. Caractérisation Bactériennes.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1. Aspect Macroscopique des Colonies Isolées.....</b>	
<b>3.2. Observation Microscopique.....</b>	
a. Examen à l'état frais.....	28
b. Coloration de Gram.....	29
c. Coloration de Spores.....	31
<b>4. Les tests Biochimiques.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1. Les tests Respiratoire.....</b>	<b>31</b>
4.1.1. Test Catalase.....	
4.1.2. Test Réduction et du Nitrate.....	
4.1.3. Test sur Milieu Viande Foie.....	
4.2. Le mannitol-Mobilité.....	
4.3. Milieu TSI (Tripl Sugar Iron Agram).....	
4.4. Test de Citrate de Simmon.....	
4.5. Test Clark & Clubs.....	
<b>5. Les Tests Enzymatique.....</b>	
5.1. Test MEVAG.....	
5.2. Test LDC et ADH.....	
5.3. Isolment sur Milieu King A et King B.....	
5.4. Test Estérase.....	
5.5. Test Lécithinase.....	
5.6. Test Gélatinase.....	
5.7. Test Lipase.....	
5.8. Dégradation de L'amidon.....	
5.9. Test de Pictine.....	
<b>6. Antibiogramme.....</b>	<b>42</b>
<b>7. Résultats après UV.....</b>	<b>45</b>
7.1. Coloration de Gram.....	45
7.2. Mannitol-Mobilité.....	
7.3. Test Nitrate du Réductase.....	
7.4. Milieu TSI (Tripl Sugar Iron Agar).....	

<b>7.5. Citrate de Simmon.....</b>	
<b>8. Discussion.....</b>	<b>50</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>51</b>
<b>Référence Bibliographique.....</b>	<b>53</b>
<b>Annex</b>	



***Introduction***

***Générale***



# Introduction

---

## Introduction

Une zone humide est une communauté écologique inondée d'eau toute l'année ou de façon saisonnière. Les zones humides se trouvent de la toundra aux tropiques et sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique. Les zones humides comptent parmi les écosystèmes les plus productifs au monde. Une immense biodiversité d'espèces de microbes, de plantes, d'insectes, de poissons, d'amphibiens, de reptiles, d'oiseaux et de mammifères peut faire partie d'un écosystème de zones humides. Les zones humides fournissent des avantages économiques importants à la société humaine, notamment certains services éco-systémiques qu'aucun autre écosystème ne peut fournir, notamment certains types d'amélioration de la qualité de l'eau, la protection contre les inondations, le contrôle de l'érosion des plages. (Balwn2021).

Les zones humides sont protégées par la Convention de Ramsar de 1971 : l'organisation compte au moins 53 zones humides d'importance internationale. Dans ce contexte ; la journée mondiale des zones humides est célébrée chaque année le 2 février pour sensibiliser le monde au rôle vital des zones humides. (<https://www.ramsar.org>)

Les zones humides jouent un rôle important dans les processus environnementaux car elles fournissent des services tels que le cycle des nutriments, la purification de l'eau, la réduction de la pollution, la séquestration du carbone, la recharge des eaux souterraines, la réduction des inondations, le contrôle de l'eau et des habitats pour les organismes aquatiques (Ramachandraetal.,2021 ; Ramachandra, 2022). . Les zones humides sont connues à juste titre sous le nom de « reins du paysage » en raison de leur capacité durable à absorber les polluants par le sol et les plantes et à fournir de l'eau propre à la communauté. Les composants biotiques et abiotiques des zones humides remplissent des fonctions physiques, chimiques et biologiques qui fournissent une gamme de services pour le bien-être humain (Ramachandraetal ; 2023). Telles des éponges dans le paysage, les zones humides agissent comme des réservoirs naturels en permettant à l'eau de s'infiltrer pendant les moussons et en fournissant de l'eau pendant les périodes post-moussons (saisons maigres). Une fonction hydrologique importante est la capacité de réduire la gravité maximale des inondations grâce à l'infiltration et à la rétention, ce qui aide à réguler le débit d'eau (Ramachandra, 2022). Les plantes émergeant dans les zones humides régulent le débit d'eau et captent les polluants liés aux sédiments, notamment le carbone, l'azote, le phosphore et les métaux lourds. Les zones humides comptent parmi les écosystèmes les plus productifs de la planète et fournissent une multitude de services écologiques

# Introduction

---

qui comprennent des avantages tangibles et intangibles pour soutenir les moyens de subsistance et le bien-être humain (**Ramachandraetal.,2021**). qui contribuera à sensibiliser et fournira un outil quantitatif pour évaluer la durabilité des politiques de gestion judicieuse et la préservation des moyens de subsistance fragiles qui soutiennent les écosystèmes (**SEEA, 2021**).

Des études ont montré la présence de microorganismes dans les zones humide notamment la présence de protéobactéries, en particulier de la classe des gammaprotéo bactéries, est répandue dans les zones humides construites pour le traitement des eaux usées. La diversité et la structure des communautés bactériennes des rhizosphères ont été révélées dans différents habitats de zones humides côtières, les protéobactéries étant le phylum dominant (**Liu, 2022**). La structure et la diversité des communautés bactériennes ont également été explorées et, collectivement, ces résultats soulignent l'importance des communautés bactériennes dans les écosystèmes des zones humides.

Des recherches récentes ont montré que la valorisation des micro-organismes des zones humides (par exemple les cyanobactéries ont des taux de production primaire élevés), des cycles biogéochimiques (par exemple les transformations de l'azote et du carbone) et des sols côtiers sont importants pour le maintien des écosystèmes. Compte tenu de la grande diversité spatiale et saisonnière des écosystèmes côtiers, l'identification des déterminants de la composition et de la répartition des communautés microbiennes dans des conditions environnementales complexes et diverses est un défi et joue un rôle écologique et économique important (**Yuetal,2019**).

la présent mémoire comprend trois parties : la première est consacrée à une synthèse bibliographique qui regroupe trois chapitres. Le premier chapitre donne l'importance des zones humides et de leurs caractéristiques des micro-organismes dans les zones humides, le deuxième donne une valorisation de micro-organismes, et le troisième traite l'effet des ultraviolets (UV) sur la survie des microorganismes. La partie expérimentale comprend deux chapitres, le premier est les méthodes suivies pour étudier cette zone et approcher la vie microbienne dans ce biotope, tandis que le deuxième présente les résultats obtenus lors de notre étude et la discussion.



***Partiel: Synthèse  
bibliographique***



***Chapitre I: Généralité  
sur les zones humides***

Les zones humides, telles que les marais, les tourbières, les lagunes et les plaines inondables, sont des écosystèmes particulièrement riches en biodiversité microbienne, notamment en bactéries. Les bactéries dans ces environnements jouent des rôles cruciaux dans le maintien des fonctions écologiques, la qualité de l'eau, et la décomposition de la matière organique.

## **1. La zone de la Macta**

La zone humide de la Macta (35° 41'N 0° 10'E, -2 jusqu'à 50 m d'altitude) c'est sous le contrôle du gouvernement et c'est la Conservation des Forêts de Mascara qui s'en occupe (Megharbi, 2009). Elle s'étale sur 44 500 ha et c'est une dépression entre la Méditerranée au nord et les montagnes de Béni-chougrane au sud. Elle se remplit avec l'eau des pluies, des sources souterraines et parfois avec les rivières Oued Sig, Oued Habra et Oued Tinn. Il y a quatre types de roches : le Pliocène marin, le Pliocène continental, le Calabrien et le Quaternaire continental. C'est à cause de l'évaporation dans la lagune formée par la plaine de l'Habra que ça devient salé, après un truc avec Thyrrénide en mode effondrement et transgression pré-flandrienne qui a ramené l'eau salée dans cette grande dépression (Tinthoin, 1948).

## **2. L'importance de la zone humide**

L'importance de la zone humide de la Macta réside dans sa biodiversité exceptionnelle, son rôle écologique crucial, sa position géographique stratégique et son impact socio-économique significatif dans la région d'Oran, ainsi que dans les wilayas voisines de Mascara et de Mostaganem. Bien qu'elle soit inscrite sur la liste Ramsar d'importance internationale, elle reste relativement peu étudiée, notamment en ce qui concerne sa charge microbienne dans les eaux lacustres, ce qui souligne l'importance de mener davantage de recherches pour mieux comprendre et préserver cet écosystème précieux.



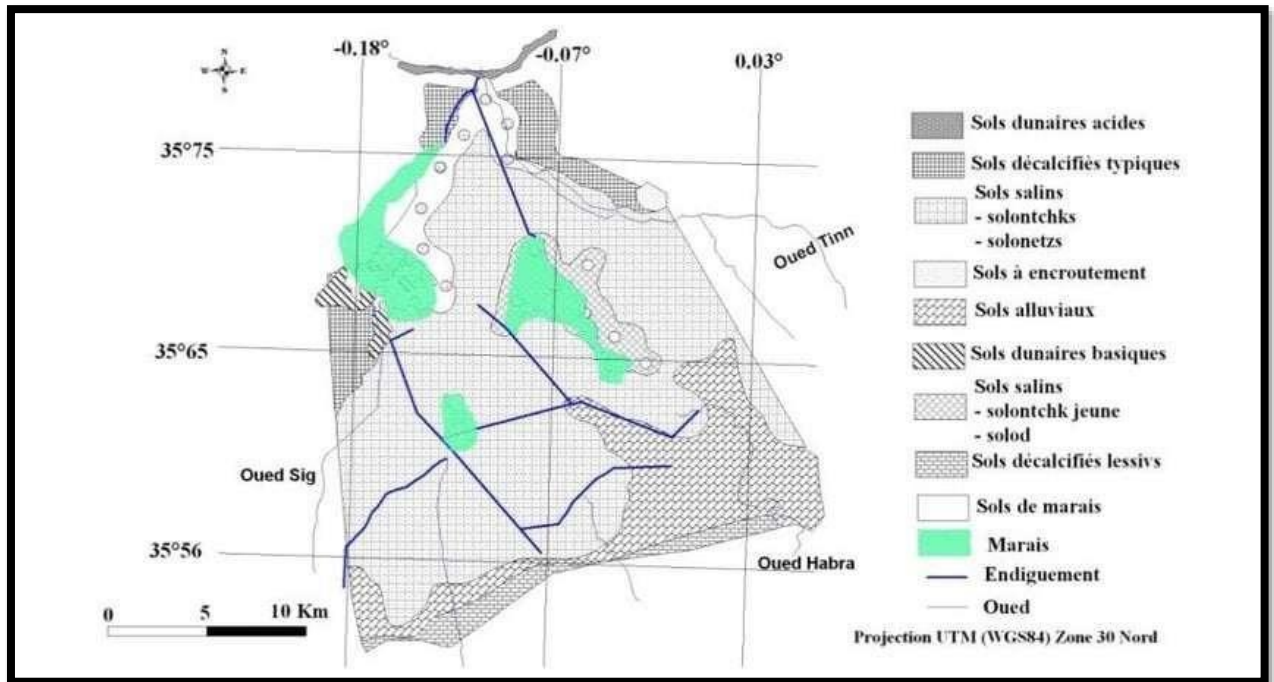


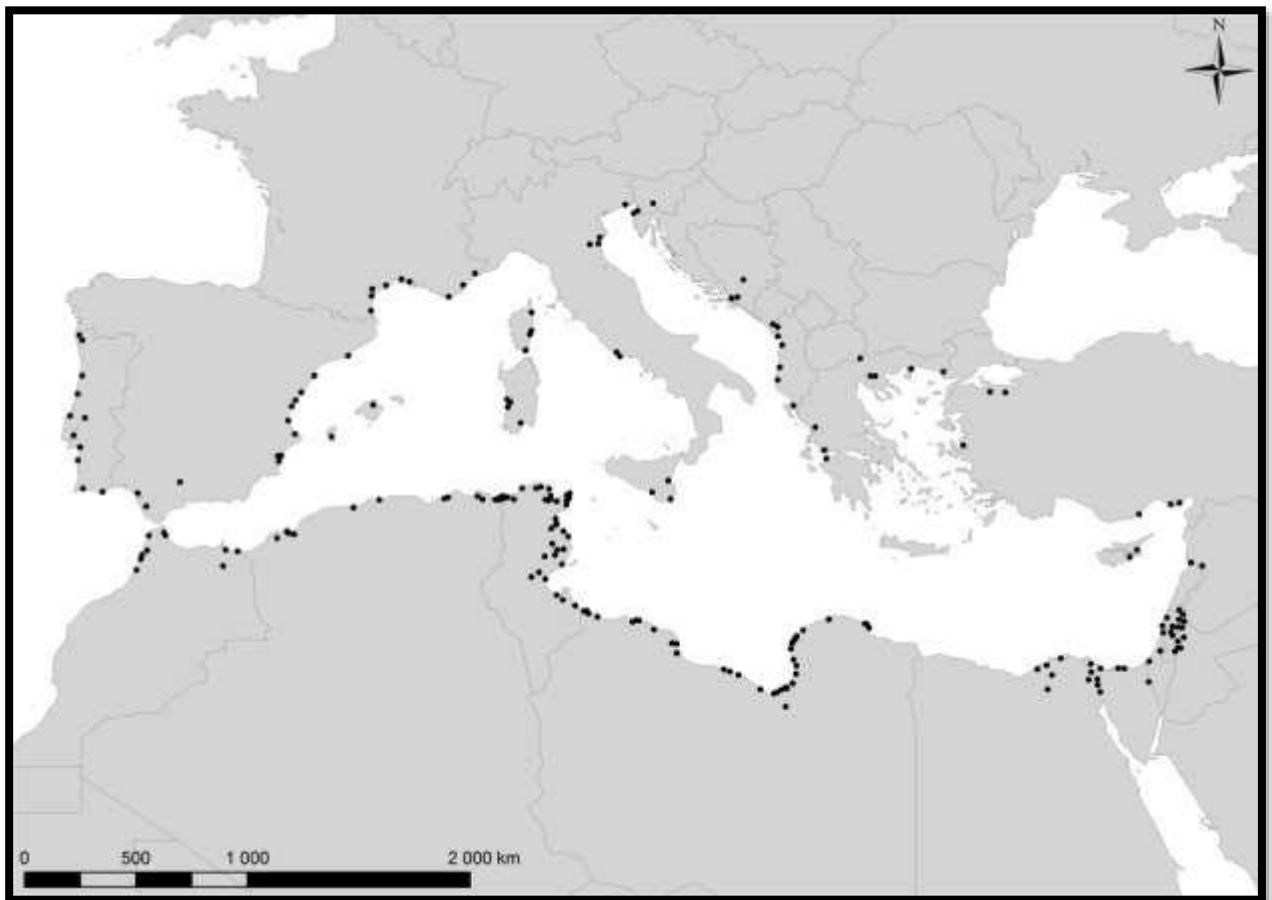
Figure 1: carte pédagogique de la zone Macta

### 3. Caractéristique des zones humides de mer méditerranéenne

Les zones humides du sud de l'Europe et de l'Afrique du Nord s'étendent de la Bulgarie à la péninsule ibérique et de la Tunisie au Maroc. Les trois principaux facteurs environnementaux expliquant la répartition des zones humides sont : le climat, la topographie et la géologie, ainsi que les marées. Les principales formations géomorphologiques contenant des zones humides sont décrites en détail et de nombreux exemples sont donnés. Il s'agit des deltas fluviaux, des lagons côtiers, des plaines inondables fluviales, des lacs d'eau douce intérieurs, des réservoirs artificiels, des bassins salins athalassiques, des systèmes intertidaux, des chenaux fluviaux permanents et des chenaux fluviaux inondés de façon saisonnière.

De nombreux inventaires et classifications des zones humides de la région ont été réalisés, mais peu d'entre eux sont comparables. Une nouvelle classification est proposée pour l'ensemble de la zone d'étude. Les facteurs déterminant les caractéristiques écologiques de la végétation émergente et submergée des zones humides méditerranéennes sont identifiés et leurs impacts sur la composition de la végétation sont analysés en détail. Six catégories de végétation ont été déterminées : la végétation halophile, les communautés émergentes de roselières, les forêts riveraines, les communautés de joncs nains et la végétation submergée et flottante des habitats d'eau douce. Les invertébrés, poissons, oiseaux et mammifères présents dans les zones humides méditerranéennes sont répertoriés et les facteurs responsables de leur présence ou de leur absence sont analysés.

En règle générale, les oiseaux sont très bien connus, mais les informations sur les invertébrés, les poissons et les mammifères sont encore pauvres. Les problèmes d'utilisation et de conservation des zones humides méditerranéennes montrent que la plupart d'entre elles sont surexploitées et dégradées, et que peu d'entre elles sont protégées. De nombreux organismes dépendant de ces zones humides sont aujourd'hui menacés d'extinction. Bien que la répartition et la taille des zones humides méditerranéennes soient bien connues, le fonctionnement des écosystèmes de la région méditerranéenne reste mal compris. C'est un handicap majeur à l'heure où l'on évoque les moyens de mieux gérer, voire de restaurer, certaines zones humides méditerranéenne (**Whighametal ,1993**).



**Figure 2:** Les zones humides dans littorales du Bassin méditerranéen. (OZHM, 2014).

## 4. Caractéristiques générales des zones humides

Selon (Saifouni ., 2009) (Une zone humide est caractérisée par :



**Figure 3:** Les types de zones humides rencontrées le long d'un bassin versant selon (Garzon, 2012)

- Le degré de la salinité de l'eau, celle-ci peut être douce, saumâtre ou salée.
- Le niveau d'eau (élevé, faible et variable).
- La durée de submersion : une zone humide peut être permanente ou temporaire. Présence ou absence de végétation hygrophile.
- Composée d'espèces adaptées à la submersion ou aux sols saturés d'eau.
- La nature de la zone humide (naturelle/artificielle).
- La stabilité de l'eau dont les zones humides continentales comprennent : Eaux dormantes, étangs, lacs, lagunes, mares, retenues collinaires et barrages.

## 5. La fonction écologique des zones humides

### a. L'hydrologie

Les zones humides remplissent plusieurs fonctions hydrologiques essentielles. Elles agissent comme des filtres épurateurs améliorant la qualité de l'eau, grâce à un processus physique qui favorise le dépôt des sédiments et le piégeage d'éléments toxiques comme les métaux lourds. De plus, elles jouent un rôle crucial dans la régulation des régimes hydriques en retardant le ruissellement des eaux, ce qui permet leur infiltration dans le sol et contribue à la recharge des nappes phréatiques (**Bahi, 2012**).

### b. Biologique

Les zones humides jouent un rôle crucial dans le maintien des fonctions biologiques essentielles à la vie des organismes. Grâce à la diversité des ressources alimentaires et des habitats qu'elles offrent, ces écosystèmes constituent des refuges, des abris de nourriture et des sites de reproduction pour de nombreuses espèces animales et végétales. De plus, elles contribuent à la purification de l'eau en éliminant les agents pathogènes et en réduisant les substances indésirables telles que les nitrates et les phosphates, qui sont responsables de l'eutrophisation des milieux aquatiques (**Bahi, 2012**).

### c. Climatique

Les zones humides jouent un rôle socio-économique crucial en fournissant de l'eau potable pour la consommation humaine et animale ainsi que pour les besoins agricoles et industriels. Elles sont également le lieu de diverses productions, telles que la production de sel, l'agriculture (élevage, pâturage, rizières, exploitation forestière, roseaux) et la production piscicole (pêche, pisciculture) (**Bahi, 2012**).

### d. Les fonctions économiques

Les zones humides jouent un rôle socio-économique crucial en fournissant de l'eau potable pour la consommation humaine et animale ainsi que pour les besoins agricoles et industriels. Elles sont également le lieu de diverses productions, telles que la production de sel, l'agriculture (élevage,



***Chapitre II: Valorisation des  
microorganismes de la zone  
macta***

## Chapitre II: Valorisation des microorganismes de la zone macta

---

### 1. Définition des microorganismes

Les micro-organismes, également appelés microbes, sont de minuscules formes de vie invisibles à l'œil nu et nécessitant un microscope pour être observés (Fenchel, 2013). Ce groupe diversifié comprend des procaryotes, comme les bactéries, et des organismes unicellulaires eucaryotes comme les protozoaires, les algues et les champignons (Amaya, 2013). Ils jouent un rôle crucial dans la biosphère, influençant le flux d'énergie et de matière (Fenchel, 2013). Les micro-organismes peuvent être bénéfiques, par exemple en produisant de l'oxygène et en décomposant les matières organiques, mais ils peuvent également être nocifs, provoquant des maladies chez les plantes et les humains. Malgré leur petite taille, les micro-organismes ont un impact important sur l'environnement et la santé humaine (Maraz, 2021)

### 2. Les microorganismes dans les zones humides

Dans les zones humides, vous pouvez trouver une variété de micro-organismes, notamment les *Protéobactéries*, les *Chloroflexi*, les *Bactéridies*, les *Acidobactéries*, les Cyanobactéries, les *Nitrospirae*, les *Planctomycètes*, les Actinobactéries, les *Firmicutes*, les *Chlorobi*, les *Spirochaetae*, les *Gemmatimonadetes*, les *Deferribacteres*, OP8, WS3, TA06 et OP3. Les *Protéobactéries*, en particulier, représentent une proportion significative, avec des sous-groupes tels que les alphas, bêta, gamma et delta, qui dominent souvent et peuvent contribuer efficacement à la réduction des polluants organiques. Les micro-organismes de type *Nitrospira* sont également souvent abondants dans les zones humides, surtout celles construites pour purifier les eaux de surface (Shang 2022).

#### Effets physiques et chimiques sur les micro-organismes des zones humides

L'activité microbienne est importante dans les milieux humides et pour la décomposition de la matière organique. Les micro-organismes peuvent modifier les caractéristiques physiques et chimiques d'un sol de zone humide et jouer un rôle essentiel dans la dynamique de la matière organique du sol, le transfert d'énergie et le cycle biochimique élémentaire (Angeloni et al. 2006). Dans les zones humides côtières, la décomposition microbienne empêche les polluants de pénétrer dans les océans (Liu et al. 2007).

De plus, différentes espèces et communautés microbiennes fournissent différentes ressources et fonctions génétiques (Liu et al. 2007). En tant que transition entre les écosystèmes terrestres et aquatiques, les zones humides offrent un habitat unique à une large gamme d'espèces microbiennes. Une diversité microbienne élevée contribue à la diversité génétique des populations microbiennes et a un effet positif sur l'efficacité du cycle des nutriments et des processus écosystémiques importants,



## Chapitre II: Valorisation des microorganismes de la zone macta

---

garantissant que tous les composés organiques sont recyclés (Loreau, 2001).

Parallèlement, les micro-organismes sont très sensibles aux changements environnementaux. Certaines études ont étudié les impacts de la salinisation des sols sur la communauté microbienne et ont constaté que l'augmentation des niveaux de sel avait un impact négatif significatif sur les populations microbiennes : (Yuan et al. 2007) ont constaté qu'il existait une relation exponentielle négative significative entre la salinité du sol, la biomasse microbienne du sol et la respiration basale du sol. (Sardinha, 2003) ont démontré une forte baisse de la production.

### Effet climatique

Les facteurs climatiques, tels que le débit d'eau et la température, ont un impact significatif sur la composition et la fonction des communautés microbiennes dans les zones humides. Ces communautés jouent un rôle essentiel dans le cycle des nutriments et les processus biogéochimiques.

Les zones humides côtières sont particulièrement vulnérables à la dégradation due aux activités humaines et au changement climatique, qui peuvent modifier la structure et le fonctionnement de ces communautés microbiennes. Pour améliorer la dégradation microbienne dans les zones humides artificielles, il est crucial de prendre en compte des facteurs tels que la disponibilité du carbone organique, les conditions redox et la présence de plante (Mu 2021 et Singh 2019).

### Effet de salinité

La salinité des zones humides affecte les communautés microbiennes de plusieurs manières, comme l'ont révélé des études récentes :

#### a. Changement dans la composition des communautés microbiennes

(Song, 2020) a découvert que l'augmentation de la salinité dans les zones humides artificielles entraînait un changement dans les communautés bactériennes. Cela suggère que la salinité peut sélectionner des bactéries capables de survivre et de fonctionner efficacement dans des environnements plus salés.

#### b. Effet sur l'accumulation et rôle des déchets microbiens

Chao (2022) a observé que dans les zones humides côtières à forte salinité, l'accumulation de débris microbiens diminuait, ce qui suggère qu'une salinité élevée peut réduire la contribution microbienne à la matière organique du sol.

#### c. La diversité microbienne et sa fonction

## Chapitre II: Valorisation des microorganismes de la zone macta

---

- Jackson (2009) a signalé que des niveaux de salinité élevés augmentaient la diversité bactérienne dans les sédiments des zones humides de Louisiane. Cependant, malgré cette augmentation de la diversité, la fonction microbienne globale a diminué, ce qui peut signifier que les microbes des environnements hypersalins sont plus diversifiés mais moins efficaces dans leurs rôles écologiques.

### **d. Dominance des microbes adaptés au sel**

- Gao (2021) a noté que dans les zones humides artificielles partiellement saturées, les microbes adaptés au sel devenaient dominants à mesure que la salinité augmentait. Il y a également eu un changement dans l'abondance de certaines bactéries spécifiques, mettant en évidence l'effet de la salinité sur la structure des communautés microbiennes.

### **L'effet des précipitations**

Les recherches indiquent que les précipitations influencent sur la vie microbienne des zones humides. Une diminution des précipitations peut réduire la biomasse microbienne et altérer les communautés microbiennes. Par exemple, dans les tourbières à sphaignes, moins de précipitations avec le réchauffement ont diminué la biomasse microbienne, tandis que dans les forêts tropicales humides de montagne, une baisse des précipitations a réduit la biomasse microbienne et la respiration.

Ces études soulignent la sensibilité des micro-organismes des zones humides aux variations des précipitations, impactant les écosystèmes (**Baskinka 2020, krashevskaja 2012**).

### **Effet de pH**

Le pH des zones humides joue un rôle crucial dans la composition et l'abondance des micro-organismes. Atkinson (2011) a montré que les activités agricoles peuvent augmenter le pH des zones humides, entraînant ainsi des changements dans les assemblages microbiens. Cette observation est soutenue par les travaux de Lee (2018), qui a identifié le pH comme un des principaux facteurs influençant la composition des communautés bactériennes dans les sols des zones humides.

### **L'effet de l'acidité**

L'acidité affecte les micro-organismes des zones humides de plusieurs manières :

- **Modification de la biodiversité microbienne**



## Chapitre II: Valorisation des microorganismes de la zone macta

---

L'acidité peut sélectionner pour des micro-organismes acidophiles, tandis que les espèces moins tolérantes à des pH bas peuvent diminuer en abondance ou disparaître. Cela réduit la diversité microbienne globale.

- **Altération des processus microbiens** : Les micro-organismes jouent un rôle clé dans la décomposition de la matière organique et le cycle des nutriments. L'acidité peut ralentir ces processus en inhibant les enzymes microbiennes essentielles, ce qui réduit la décomposition et la minéralisation des nutriments. (Sullivan, 2017)
- **Réduction de la disponibilité des nutriments** : L'acidité peut entraîner la précipitation de certains éléments nutritifs essentiels comme le phosphate, rendant ces nutriments moins disponibles pour les micro-organismes et les plantes. Cela peut aussi augmenter la solubilité des métaux toxiques comme l'aluminium, qui sont nocifs pour les micro-organismes.
- **Impacts sur la structure du sol** : L'acidité peut affecter la structure du sol en modifiant l'activité des micro-organismes qui produisent des substances liantes, comme les polysaccharides, ce qui peut conduire à une réduction de la stabilité des agrégats du sol.
- **Influence sur les interactions symbiotiques** : De nombreux micro-organismes des zones humides vivent en symbiose avec les plantes (par exemple, les mycorhizes et les rhizobiums). L'acidité peut perturber ces relations symbiotiques, affectant ainsi la santé des plantes et la fonction globale de l'écosystème. (McCullough, 2010)

Ces effets combinés montrent que l'acidité peut avoir des conséquences significatives sur la santé et la fonction des écosystèmes des zones humides, en perturbant les micro-organismes qui sont essentiels à leur maintien.

### 3. La valorisation des micro-organismes dans les zones humides

Se fait grâce à leur activité métabolique, responsable de la dégradation de la matière organique et de la transformation des polluants (Sleytr 2009, Hatano 1991). Ce processus est influencé par des facteurs tels que la présence de plantes, qui peuvent affecter la composition bactérienne (Sleytr, 2009). La performance des zones humides artificielles en matière d'élimination des micro-organismes est supérieure à celle des systèmes biologiques conventionnels à boues activées (Ulrich, 2005). Dans un type spécifique de zone humide construite, la zone humide construite à écoulement vertical intégré, les micro-organismes jouent un rôle crucial dans l'élimination des polluants, avec une biomasse bactérienne plus élevée dans les couches superficielles (Zhou, 2009).

### 4. Contribution des microbiennes à la rénovation de la zone humide

## Chapitre II: Valorisation des microorganismes de la zone macta

---

Dans les zones humides, les micro-organismes jouent un rôle crucial dans la dégradation et la minéralisation des polluants organiques. Ce processus, appelé valorisation, consiste à transformer ces polluants en composés plus simples, souvent moins nocifs. Les micro-organismes y parviennent par diverses voies métaboliques, décomposant des molécules organiques complexes en composants plus petits et plus faciles à gérer.

Dans les zones humides artificielles (CW), la composition, la diversité et l'activité de la communauté microbienne sont des facteurs clés qui influencent l'efficacité de l'élimination des polluants. En comprenant la dynamique microbienne au sein des CW, les chercheurs et les ingénieurs environnementaux peuvent optimiser la conception et l'exploitation des zones humides pour améliorer l'efficacité de l'élimination des polluants.

### 5. Le rôle d'UV chez les bactéries présent dans les zones humides

Le rayonnement Ultra-violet joue un rôle important dans la formation de la diversité fonctionnelle des communautés bactériennes dans les zones humides (**Hunting, 2013**). Cela peut endommager les bactéries périphytes, entraînant des modifications dans la composition et la fonction des communautés (**Thomas, 2009**). Cependant, certaines bactéries présentes dans les zones humides de haute altitude ont développé une résistance aux rayonnements UV-B (**Zenoff, 2005**).

### 6. L'effet des rayons ultraviolets sur les bactéries présentes dans les zones humides

Le rayonnement UV peut avoir des impacts importants sur les communautés bactériennes des zones humides. Des études ont montré que le rayonnement UV peut altérer la composition fonctionnelle et la diversité des communautés bactériennes dans les systèmes aquatiques peu profonds et les zones humides.

L'exposition aux rayons UV peut endommager des biomolécules importantes comme l'ADN, les lipides et les protéines des bactéries, entraînant un stress cellulaire et une mortalité. Cependant, les bactéries habitant des environnements difficiles et exposés aux UV, comme les zones humides de haute altitude, ont développé diverses stratégies pour faire face au stress UV, telles que des mécanismes efficaces de réparation de l'ADN et des défenses contre les dommages oxydatifs induits par les UV.

### 7. Mutations causées par les UV

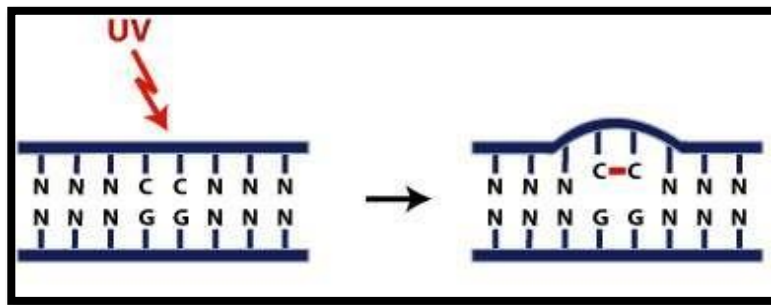
Des dimères de deux bases pyrimidine adjacentes dans le même brin d'ADN peuvent se former à la suite d'une irradiation UV, mais les dimères thymine-thymine se forment plus facilement que les

## Chapitre II: Valorisation des microorganismes de la zone macta

---

dimères cytosine-thymine ou les dimères cytosine-cytosine. Bien que les dimères de pyrimidine ne soient pas les seuls photo produits formés dans l'ADN bactérien par la lumière ultraviolette, ils provoquent la plupart des effets létaux et mutagènes observés dans certaines souches bactériennes à faibles doses.

Toutes les souches connues d'*E. coli* sont également susceptibles de produire des dimères de pyrimidine dans leur ADN (environ six dimères formés par génome, par erg et par mm), bien que certaines souches soient 2 000 fois plus résistantes aux rayons UV que d'autres.



**Figure 4:** Les mutations causées par L'UV (Support de Biologie expérimentale depuis 2007).

Les mutations qui augmentent la sensibilité aux rayons UV peuvent le faire soit en réduisant la capacité à réparer les dimères de pyrimidine, soit en réduisant la capacité à tolérer les dimères de pyrimidine non traités, c'est-à-dire en remplissant toutes les fonctions nécessaires à la formation de colonies malgré leur présence continue dans l'ADN. Les souches d'*E. coli* les plus sensibles ne peuvent pas réparer ou tolérer plus de quelques dimères de pyrimidine, voire aucun ; Les plus résistants peuvent en réparer des milliers et en contenir jusqu'à 50 ou 100. (**Evelyn M. Witkin. 1969**).

***Partiell: Synthèse  
expérimentale***



***Chapitre I:***  
***Matériel et méthode***

La partie expérimentale a été réalisée au laboratoire d'analyse des eaux puis au laboratoire pédagogique du Département des Sciences Biologiques de l'Université Abdelhamid Ben Badis de Mostaganem.

### 1. L'échantillonnage

Nous avons prélevé un échantillon d'eau de la région de la Mactaa coté mascara entre 9h00 et 10h30, où nous avons ouvert les flacons stériles, les avons immergés sous l'eau, et remplis jusqu'au bord. les flacons ont été transporté au laboratoire dans une glacière après l'avoir bien fermé afin de réaliser les tests (Figure5).



**Figure 5.** Echantillon d'eau de la zone de la Mactaa

### 2. Lieu d'échantillonnage

La zone humide de la Macta est localisée à 34°41' N et 000°10'W à une altitude moyenne de 9 m et couvre une superficie de 44 500 ha. C'est une dépression sous forme triangulaire délimitée au nord par des dunes littorales (Golf d'Arzew), au sud, à l'est et à l'ouest par des terres agricoles essentiellement et quelques formations végétales servant de parcours surtout à l'est (Direction générale des forêts, 2012).

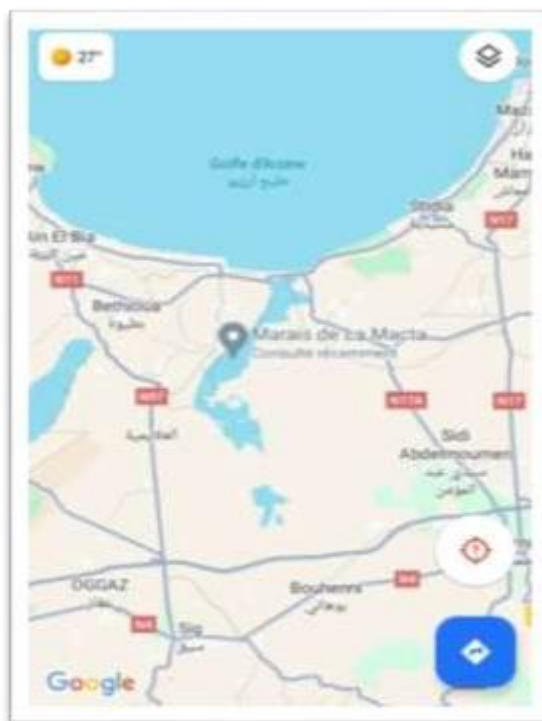


Figure 6. Carte de localisation de la Mactaa

### 3. Traitement de l'échantillon dans la ADE

L'Algérienne Des Eaux (ADE) est un établissement public national à caractère industriel et commercial doté de la personnalité morale et de l'autonomie financière.

L'entreprise de décontamination et de traitement des eaux de la wilaya de MOSTAGANEM est une entreprise qui contient deux services:

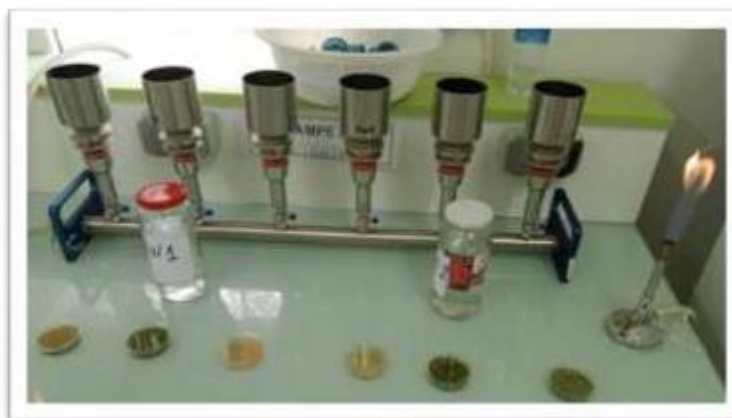
#### **Le laboratoire bactériologique**

Un examen bactériologique 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 et conserver dans des conditions satisfaisantes. Les trois analyses les plus importantes menées dans ce laboratoire étaient la recherche de coliformes totaux, la recherche des *E. coli* et la recherche des streptocoques fécaux.

#### **Les analyses bactériologiques**

Nous avons commencé par la filtration qui est un procédé physique destiné à clarifier un liquide qui contient des matières solides en suspension en les passant à travers un milieu poreux. L'eau passe à travers un filtre qui intercepte les petites particules. Les mailles du filtre sont petites donc plus petite doit être une particule pour passer.

En premier lieu, la membrane filtrante a été placée dans un entonnoir à filtration. Puis, les entonnoirs à filtration ont été remplis. L'ouvrir des vannes signifie le démarrage de la pompe à vide. Des bactéries peuvent être piégées par la membrane. Cette membrane est utilisée par la suite pour la culture bactérienne sur boîtes Pétri contenant des milieux de culture spécifiques aux coliformes, La gélose Slanetz et Barley à 37 °C pendant 24 h pour les streptocoques fécaux qui sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et les animaux à sang chaud. Leur recherche constitue un bon indice de contamination fécale ancienne. Un dénombrement a été effectué suite à l'incubation.



**Figure 7.** Pampe de filtration

### Analyses physico-chimiques

Les analyses effectuées dans ce laboratoire sont la prise de température, mesure du pH, la Conductivité, la turbidité et la salinité.

#### a. Le turbidimètre

C'est un appareil qui permet de mesurer la turbidité d'un liquide. C'est l'indice apparent qui montre que l'eau contient des matières en suspension (débris organiques, argiles, organismes microscopiques...). La turbidité se mesure par le turbidimètre. Nous avons mis l'échantillon dans un puits, et le rentre ensuite dans une chambre cubique de l'appareil, après refermer la chambre très vite. La lecture se fait sur l'appareil, la turbidité est exprimée en NTU.





**Figure 8.** Photo d'appareil Tubidimètre.

### **b. La Salinité**

La présence de sel dans l'eau modifie certaines propriétés telles que la densité, la compressibilité, le point de congélation, et d'autres, comme la viscosité et l'absorption de la lumière, restent inchangées. La qualité du sel dans l'eau influence des facteurs tels que la conductivité et la pression osmotique. La salinité est généralement mesurée à l'aide d'une approche multi-paramètres (Bousaaroura., 2011).

### **c. Le pH**

Le pH est une échelle logarithmique qui quantifie l'acidité ou la basicité d'une solution, avec 7 comme valeur neutre. Il se calcule à partir de la concentration en ions  $H_3O^+$  ou se mesure directement avec un pH-mètre étalonné.

-Nous avons commencé par talonner l'électrode de pH avec des solutions tampons de pH connus (typiquement 4, 7 et 10), puis nous avons Plongé l'électrode dans l'échantillon à mesurer et attendez que la lecture se stabilise.

### **d. La température**

La température est un facteur essentiel pour apprécier la qualité de l'eau .La mesure de la température de l'eau se fait à l'aide d'un thermomètre. Retirer la protection de la sonde de mesure et rincer celle-ci à l'eau distillée avant chaque utilisation. Plonger la sonde directement dans l'eau à analyser et remuer délicatement la sonde et attendre que l'affichage se stabilise pour relever la température.

### **e. La Conductivité**

La conductivité électrique (CE) mesure la capacité d'une solution à conduire le courant électrique,

déterminée par les ions dissous et leurs concentrations (Rejsek F, 2002) souligne l'impact de la température et de la viscosité : la mobilité des ions croît avec la température et décroît avec la viscosité. La conductivité de l'eau se quantifie en microsiemens par centimètre ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). **Il faut** rincer la sonde à plusieurs reprises avec de l'eau distillée avant de la plonger dans l'échantillon à analyser (Kherchiche et Bouzidi., 2013).



**Figure 9.** Appareil de mesure de conductivité

#### **4. Pratique au Laboratoire pédagogique de l'Université de Mostaganem**

##### **Isolement et Purification**

Nous avons mis 1 ml de l'échantillon d'eau dans un tube, ajouté 9 ml d'eau salée stérile, puis l'avons placé dans l'incubateur pendant 24 heures. De Une série de dilution a été effectuée A l'aide d'une micropipette, Nous avons Prélevé 1 ml de la suspension  $10^{-3}$  que nous avonsensemencé sur gélose Nutritif et incubé pendant 24h à  $37^{\circ}\text{C}$ .

##### **Conservation**

Une colonie bien isolée a été prélevée à partir d'une boîte de pétri qui contient des colonies pures, Les colonies ont étéensemencées dans un bouillon nutritif, après une Incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h, 1ml de la suspension bactérienne a été centrifugé à 1000 t/m pendant 20 min dans des Eppendorfs, le culot a été éliminé, 0.8ml de bouillon nutritif stérile et 0.2 ml solution glycérol stérile ont été ajoutés aux Eppendorfs qui contiennent le culot, Les Eppendorfs ont été vortexé et conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  (au congélateur).

#### **5. Identification des bactéries**

##### **5.1.Observation Macroscopique**

L'aspet macroscopique des colonies a été étudié suivant : la couleur, la taille, la forme l'aspect , Opacité (Sidi Baba et Bent Mohammed, 2008).

##### **Observation Microscopique**

L'observation microscopique permet d'étudier la morphologie des cellules d'une espèce microbienne, ce qui constitue le premier critère d'identification. Il comprend l'examen à l'état frais (entre la lame et la lamelle des spores vivantes) et l'examen post coloration (sur frottis séchés et fixés des spores mortes) .

### **a. Observation à l'état frais**

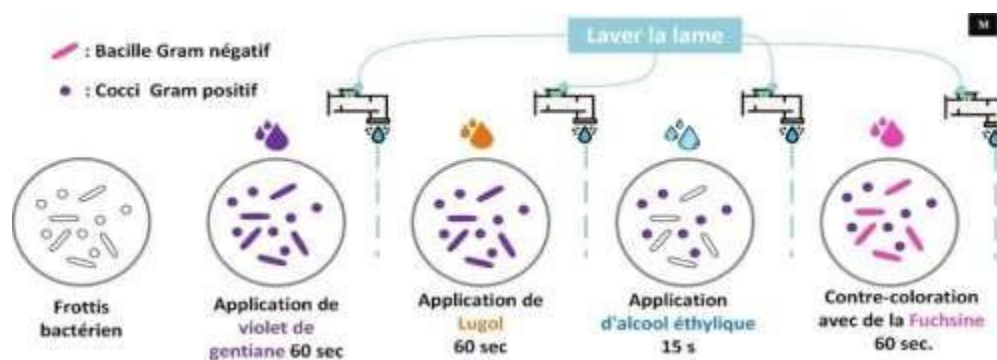
Une préparation l'état frais consiste à placer une suspension de micro-organismes entre une lame et une lamelle. Il permet alors d'observer la forme des cellules, la façon dont elles sont regroupées et mobilité, ainsi que le nombre approximatif de bactéries dans chaque champ microscopique. Toutes ces informations déterminent la morphologie bactérienne qui constitue les premiers critères d'identification. Un microscope optique est utilisé pour faire la mise au point avec un objectif grossissant x40 sous UN faible lumière (**Benaïsa, 2021**).

### **b. Coloration de Gram**

La coloration de gram est la méthode le plus largement utilise en bactériologie pour distinguer les microorganismes sur la base de leur coloration, cette coloration diviser les bactérie en deux classe, des bactéries à coloration de Gram positive de couleur violete, et des bactéries à coloration de Gram négative de couleur (**Prescott et al., 2018**).

La coloration de Gram est basée sur l'affinité tinctoriale différente des bactéries à certains colorants due à la constitution de leur paroi. Cette coloration permet aussi d'observer la morphologie des bactéries (formes allongées pour les bacilles et arrondies pour les cocci). Le principe de la technique est le suivant: le cristal violet oxalaté colore la paroi de toutes

Les bactéries en violet, le lugol est un mordant qui fixe le violet, l'alcool décolore les bactéries qui ont une membrane perméable à l'alcool, la fuschine colore en rose les bactéries décolorées par l'alcool, ainsi, les bactéries à coloration de Gram négative sont colorées en rose et les bactéries à coloration de Gram positive en violet (**Astier-Théfennea et al, 2014**)



**Figure 11.** Schéma présenté la technique de coloration de Gram, (<https://microbiologie-clinique.com/Coloration-Gram.html>).

### c. Coloration des spores

Cette coloration permet la mise en évidence de la présence de spores au sein d'une cellule bactérienne. (Poignant ,2011)

#### ❖ La Technique

Après la réalisation d'un frottis , Ce dernier a été recouvert de malachite ,chauffée pendant 10 minutes jusqu'à émission de vapeurs blanches sans faire .Après refroidissement et rinçage à l'eau distillée une contre coloration a été effectuée en recouvrant la lame par la fuchsine pendant 2minutes .Enfin , la lame a été lavée séchée et observée à l'objectif (X 100).

## Les tests Enzymatique

### 5.3.1 Test LDC et ADH

Le diagnostic différentiel des espèces appartenant aux familles des Entérobacteriaceae, des Vibrionaceae des Pseudomonadaceae est souvent facilité par la recherche de la lysinedécarboxylase (L.D.C) et l'arginine-dihydrolase (A.D.H). Ces enzymes sont capable de scinder certains acides aminés en entraînantla formation de l'amine correspondante et la libération de CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O (Marchal et al, 1982).

### Test MEVAG

Le principe de ce test est la mise en évidence de la voie d'attaque des glucides. Préparer le milieu de Hugh et leifson sans gélose et le stériliser. Après stérilisation, on met 100 µl sur une plaque de microtitration et on ajoute 50 µl de la suspension bactérienne déjà lavée (on met 1 ml de la culture bactérienne dans un Eppendorf et on l'entre dans un centrifugeuse 2000 tour pendant 15 minutes, puis débarrasser du surnageant et ajouter 1 ml d'eau physiologique ) et ajouter deux gouttes de chaque sucre.

Nous avons obtenu un couleur jaune c'est une résultats positif (dégradation de sucre) ou obtient une couleur bleu résultat négatif ( pas dégradation de sucre).

### Test Gélatinase

La gélatinase est une enzyme qui dégrade la gélatine, qui est une forme dénaturée de collagène. Cette dégradation produit des acides aminés ou des peptides, et elle est souvent utilisée comme substrat pour mettre en évidence l'activité de la gélatinase .

### Technique

Faire une suspension dans 100 ml d'eau physiologique et ajouter 1g de depeptone. Ensuite, nous remplissons des tubes de 9 ml avec la solution peptonée, ajoutons une colonie et ajoutons un morceau de film. Enfin, on l'incube pendant 24 heures à 37°C.

### Test de dégradation de l'amidon

La mise en évidence de l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase ou l'amyloglucosidase est réalisée par le dépôt de la colonie de l'isolat sur gélose à amidon .

Après incubation à 37°C, des observations régulières ont été effectuées chaque 24h pendant 72 heures en recouvrant la gélose par une solution de Lugol. L'absence de coloration autour de la culture indique la dégradation de l'amidon alors que les zones contenant l'amidon se colorent en bleu (De vos et al., 2009).

### Test Lécithinase

Pour réaliser ce test, le jaune d'œuf composé de lécithine, de triglycérides et d'une lipoprotéine, a été utilisé comme substrat. La souche a étéensemencée sur gélose nutritive contenant l'émulsion du jaune d'œuf stérile. Après 24 à 72 heures d'incubation à 37°C, l'apparition de zone claire

autour de la culture indique que la souche possède la lecithinase (De Vos *et al.*, 2009).

### Test lipase

L'activité lipolytique a été démontrée en préparant une solution d'émulsion composée de 5 ml de gomme arabique avec 5 ml d'huile d'olive stérile, puis en la mélangeant avec 100 ml de gélose nutritive, en la plaçant dans des boîtes de Pétri et ensemencé par touche. L'apparition d'une zone claire autour des colonies indique la dégradation de lipides.

### Test Estirase

Notres colonies ont été ensemencées par stries en spot sur une gélose nutritive au  $\text{CaCl}_2$  (0,1 g) (1000 ml) stérile + 10 ml de Tween 80. Les résultats du test ont été observés après une incubation à 37°C pendant 24h.

### Culture sur milieux spécifiques : King A et King B

Les milieux King A et King B permettent de différencier entre les espèces du genre *Pseudomonas*, par la mise en évidence de la production de pigment spécifique. Le King A est un milieu de culture utilisé pour mettre en évidence la pyocyanine de *Pseudomonas aeruginosa* (pigment bleu). Le King B est un milieu de culture utilisé pour mettre en évidence de la pyoverdine des *Pseudomonas* du groupe fluorescent (pigment jaune-vert fluorescents) (Burkholderia, 2016).

Une colonie de notre bouillon qui contient l'isolat à étudier a été prise à l'aide d'un coton-tige stérile, puis la pente des tubes (la surface de gélose sur boîte) a été ensemencée par des stries. Enfin, les tubes (les boîtes) ont été incubés dans l'incubateur à 37°C pendant 24-48h.

### Test Pectine

Le test qui permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme pectinase est réalisé sur un couléon de gélose de milieu de Pectine dans une boîte peptone et ensemencé par touche. Ensuite, incubé pendant 2 jours à 37°C. Après incubation, versons de lugol. Apparence halo clair autour de la colonie.

### Antibiogramme

La méthode utilisée est celle de la diffusion en milieu gélosé, cette méthode simple permet la détermination de la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques à tester (Rahal .K., 2005). L'ensemencement des bactéries a été effectué par étalement sur un milieu MH a été préparé puis des disques imbibés par des antibiotiques ont été déposés. Les antibiotiques utilisés sont

regroupés dans le tableau ci-dessous (Tableau1).

**Tableau1.** Liste des antibiotiques testés sur les isolats.

Famille	Antibiotique	Abréviation
<b>Pinicillines</b>	Oxaciline	OX
	Pinicilline	PEN
<b>Macrolides</b>	Spiramycine	SP
<b>Aminopicilline</b>	Amoxilline	AML
	Ampiciline	AMP
<b>Aminosides</b>	Gentamicine	GM
	Kanamycine	KAN
<b>Glycopeptides</b>	Vancomycine	VAN
<b>Céphalosporines</b>	Cefazoline	CFZ
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline	TE

## Tests biochimiques

### Le mannitol-mobilité

Est un milieu semi-solide qui permet de déterminer la mobilité et la fermentation du mannitol.

1. Les tubes mannitol ont étéensemencé par piqure centrale jusqu'au fond du tube à l'aide d'une pipette pasteur

2. Les tubes ont été incubés pendant 24 heures à 37°C.

### TSI (Triple Sugar Iron Agar)

Le but de ce test est de mettre en évidence cinq caractères: Fermentation du Glucose, Lactose et Saccharose, production de Gaz et production d'hydrogène sulfureux (H<sub>2</sub>S). (**Lebres, 2004**). Ensemencé le milieu TSI a l'aide d'une anse stérile par des stries longitudinales au niveau de la pente et par une piqûre centrale dans le culot. Nous avons incubé les tubes ensemencés à 37°C pendant 24 heures.

### Test sur milieu viande foie

Le test sur milieu de culture à base de viande de foie (VF) a été employé afin de déterminer le type de respiration de notre bactérie. Cette caractéristique est révélée par l'apparition de la croissance, soit en surface pour une respiration aérobie, soit au fond pour une respiration anaérobie.

L'ensemencement des cultures a été effectué à l'aide d'une pipette Pasteur, qui a été utilisée pour

déposer soigneusement les bactéries dans le milieu de culture VF. La pipette a été entièrement immergée dans le tube contenant le milieu de culture, atteignant le fond, puis remontée en effectuant un mouvement en spirale afin d'assurer une distribution uniforme des bactéries dans tout le milieu. Par la suite, les tubes ont été placés en incubation à une température de 37 °C, maintenue pendant une période variant de 24 à 48 heures (Koua *étal.*, 2018).

### Test de catalase

Le test catalase a été utilisé pour déterminer la présence de l'enzyme catalase dans les bactéries. Cette enzyme est capable de décomposer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, et elle est importante pour la survie des bactéries dans des environnements riches en oxygène.

Pour réaliser le test de la catalase, deux gouttes de solution d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ont été ajoutées sur une lame de verre propre. Ensuite, la culture bactérienne a été introduite dans la lame à l'aide d'une anse. Si la bactérie possède l'enzyme catalase, une réaction se produit immédiatement et de l'oxygène est libéré, ce qui se manifeste par la formation de bulles sur la surface de la lame. Cette réaction est soit instantanée (rapide) soit retardée (avec un délai). Si la bactérie ne possède pas l'enzyme catalase, il n'y aura pas de réaction visible (Ilboudo *et al.*, 2016).



**Figure 12.** Schéma présenté la technique de teste de la catalase (<https://microbenotes.com>).

### 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<sub>3</sub><sup>-</sup>) en nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). Trois tubes de bouillon nitraté ont été soumis à une culture pendant 24 à 48 heures d'incubation à une température de 37 °C. Après incubation, nous avons ajouté deux gouttes du réactif nitrate réductase I et deux gouttes du réactif nitrate réductase II. Si le milieu devient rose ou rouge, la réaction est dite nitrate réductase positive. Si le milieu reste incolore, on a deux éventualités: Les nitrates ont d'abord été réduits en nitrites mais la réduction s'est



poursuivie. Ou les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites et se trouvent donc dans le bouillon nitrate. Dans ce dernier cas, nous provoquons la réduction chimique en ajoutant de la poudre de zinc si la couleur apparaîtra, la bactérie est dite nitrate réductase négative (**Boulekrone, 2008**).

### Test Citrate de Simmons

Le milieu Citrate de Simmons permet de mettre en évidence certaines bactéries qui sont capables d'assimiler le citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie. Ces bactéries possèdent un citrate perméase et les enzymes du catabolisme du citrate, ainsi qu'il possède un indicateur de pH « le bleu de bromothymol » dont il vire vers la couleur verte (à pH acide) et en bleue (à pH alcalin)

La pente du milieu estensemencée par strie longitudinale, réalisée à l'anse, Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C. Après 24 heures, s'il y a une culture avec une alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu), la bactérie est de Citrate positive. S'il ya pas de culture et la couleur du milieu inchangée, la bactérie est de citrate négatif (**Carbonnelle et al., 1988**).

### 6. UV sur isolat

Nous avons faire un isolement de la boite HH2 à 11 boite de pétris et les mettres dans l'incubateur pendant 48h. Après l'incubation nous avons exposé les boîtes aux UV et conserver une boite qui ne sera pas exposées aux UV, comme témoins. Nous avons prévu une durée d'exposition croissante pour chaque isolat:

Le temps était comme suit : 25,4s, 6s, 10s, 20s, 30s, 60s, 2min, 3 min à 37°C pendant 24h. quelques tests biochimiques ont été réalisé suite à l'exposition des isolats au UV : test sur milieu mannitol, test sur milieu viande foie, Test de réduction du nitrate, Teste Citrate de Simmons, puis nous avons fait la coloration de Gram.



**Figure13. Appareil à UV**

caution ultra-violet radiation obligatory eye protection (Laboratoire de Biologie)



***Chapitre II:***  
***Résultats et Discussion***

### 1. Analyses physico-chimiques

Les résultats de l'analyse des paramètres physico- chimique de l'échantillons prélevés de la zones humides Macta sont représentés dans le tableau :

**Tableau 2.** Résultats des analyses physico-chimique

Zone d'échantillon	Ph	Turbidité(NTU)	T°C	Salinité(%)	Conductivité (us /cm)
Mactaa	7,97	0,49	14,1	37,1	55,9

### 2. Résultats bactériologique

Les résultats des dénombrements des germes coliformes totaux, streptocoques fécaux et *E.Coli* concernant la zones humide de Mactaa sont représentés dans le tableau :

**Tableau 3.**Résultatsdel'analyse bactériologique au niveau de la zone humide Macta

Coliformes totaux	E .Coli	streptocoques fécaux
10	03	02

### 3. Caractérisation bactériennes

#### Aspect macroscopique des colonies isolées

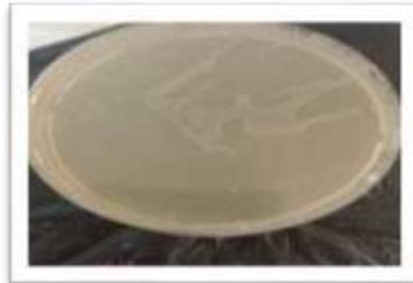
Après l'incubation nous avons constaté sept type de la colonie dans la boîte mère. Nous avons procéder à la purification des souches isolées à l'aide d'une série de repiquage qui consiste à transférer aseptiquement une culture microbienne dans un milieu neuf et stérile pour avoir à la fin une culture pure. Après ensemencement sur milieu GN et une incubation de 24 h à 37°C pour les cultures bactériennes, l'aspect macroscopique apparue comme suit :

Tableau 4. Aspect macroscopique des colonies.

	Couleur	Taille	Forme	Elévation	Aspect	Opacité
<b>HH1</b>	Beige	Moyenne	Circulaire	Plate	Crémeuse,	Transmissible
<b>HH2</b>	Jaune	Moyenne	Irrégulière	Plate	Crémeuse	Opaque
<b>HH3</b>	Beige	Prtite	Punctiforme	Plate	Crémeue	Opaque
<b>HH4</b>	Beige	Grande	Irrégulière	Plate	Crémeue	Non opaque
<b>HH5</b>	Beige	Grande	Irrégulière	Plate	Crémeue	Non opaque
<b>HH6</b>	Blanche	Moyenne	Irrégulière	Plate	Crémeue	Non opaque
<b>HH7</b>	Jaune	petite	Circulaire	Plate	Crémeue	Opaque



**Figure14.** Aspect macroscopique de HH2 **Figure15.** Aspect macroscopique de HH1



**Figure16.** Aspect macroscopique de HH6 **Figure17.** Aspect macroscopique de HH4



**Figure18.** Aspect macroscopique de HH7 **Figure19.** Aspect macroscopique de HH5



**Figure20.** Aspect macroscopique de HH3

### Observation microscopique

#### a. Examen à l'état frais

Les microorganismes examinés à l'état frais apparaissent mobiles ou immobiles selon l'espèce. Dans notre étude tous les isolats sont mobiles (Tab5 ).

**Tableau 5.** Mobilité des isolats étudiées

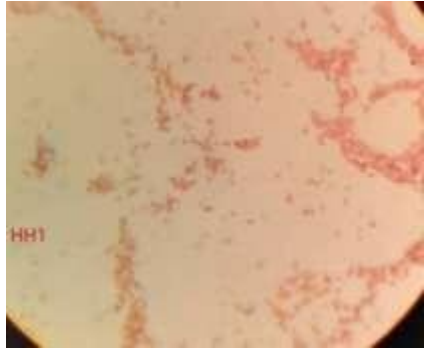
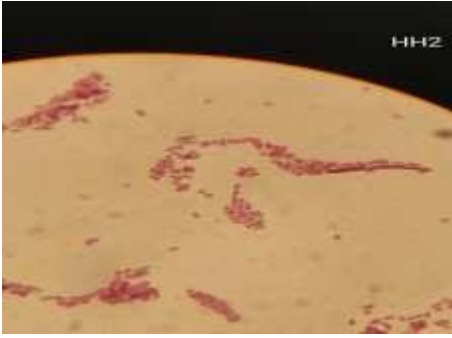
N° des isolats	Mobilité
<b>HH1</b>	Mobile
<b>HH2</b>	Mobile
<b>HH3</b>	Mobile
<b>HH4</b>	Mobile
<b>HH5</b>	Mobile
<b>HH6</b>	Mobile
<b>HH7</b>	Mobile

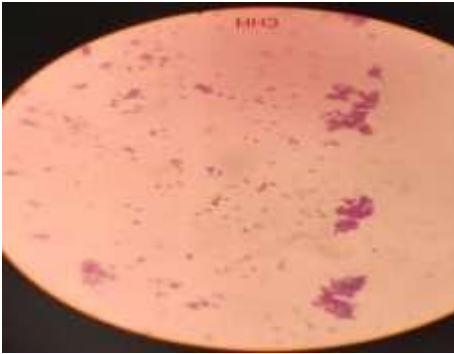

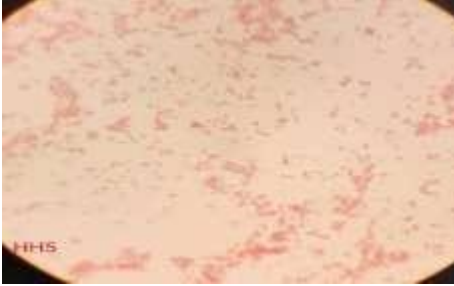

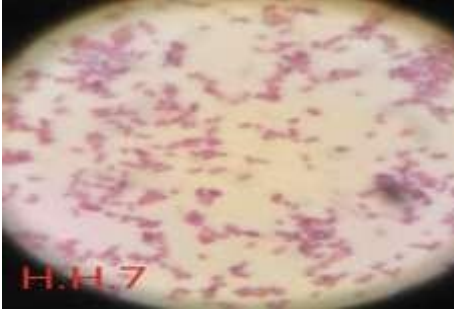
### b. Coloration de Gram

Les bactéries à coloration de Gram positif, sont généralement caractérisées par la présence d'un peptidoglycane épais (20 à 80 nm) séparé de la membrane plasmique par un espace péri plasmique tandis que les bactéries dites Gram négatif possèdent du périplasme et un peptidoglycane fin (1 à 8 nm) sur lequel repose une deuxième bicouche lipidique dans laquelle s'insèrent des porines (Huc, 2011).

Après les résultats obtenus à partir des observations macroscopiques et microscopiques nous avons sélectionné les isolats HH2, HH3 et HH5 pour les étudier en profondeur et effectuer d'autres tests, ceci par manque de tests biochimiques(tab6).

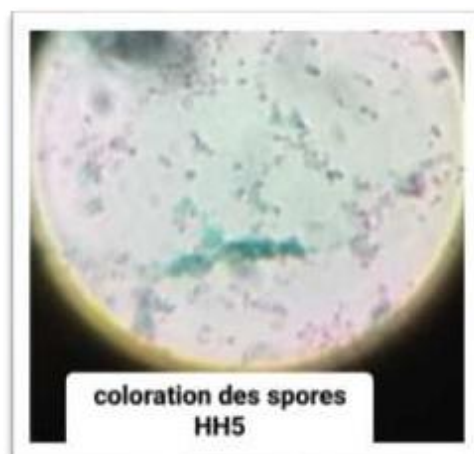
**Tableau 6.** Résultats de la coloration de Gram des isolats étudiés.

N° des isolts	Couleur	Gram	Observation microscopique
HH1	Rose	Négatif	
HH2	Rose	Négatif	

<p><b>HH3</b></p>	<p>Violette</p>	<p>Positif</p>	
<p><b>HH4</b></p>	<p>Violette</p>	<p>Positif</p>	
<p><b>HH5</b></p>	<p>Rose</p>	<p>Négatif</p>	
<p><b>HH6</b></p>	<p>Rose</p>	<p>Négatif</p>	
<p><b>HH7</b></p>	<p>Violette</p>	<p>Positif</p>	

### c. Coloration de spores

Cette coloration de spore effectuée au vert de malachite a montrée que les 3 isolats sélectionné n'étaient pas sporulées (Figure 21).



**Figure21.**Résultats de coloration de spores.

## 4. Les tests biochimique

### 4.1.Les tests respiratoires

#### Test de catalase

La présence de l'enzyme est évidente par une élaboration rapide de bulles d'oxygène se produit (catalase +), et son absence est mise en évidence par une absence ou une faible production de bulles (catalase -) (**Joffin etLeyral, 2006**).

Selon les résultats obtenus, les 3 isolats HH2 ,HH3 et HH5 possèdent l'enzyme de catalase le (tableau7) résume les résultats obtenus :

**Tableau 7.**Résultats de test catalase

Isolats	HH2	HH3	HH5
Catalase	+	+	+

#### Nitrateréductase

Dans ce test si la couleur du tube devient rouge, cela indique la présence de NO<sub>2</sub> issu de la réduction des NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, donc cette bactérie est de nitrate réductase (+). Si la couleur du tube



reste jaune, cela indique que cette bactérie est de nitrate réductase (-) (Joffin etLeyral, 2006). Selon les résultats obtenus, toutes les isolats testés posséder la nitrate réductase (Fig22 ).



Figur22.Résultats de test de Nitrate.

**Gélose viande foie**

Danscetest, lesrésultatssontlus commesuit:

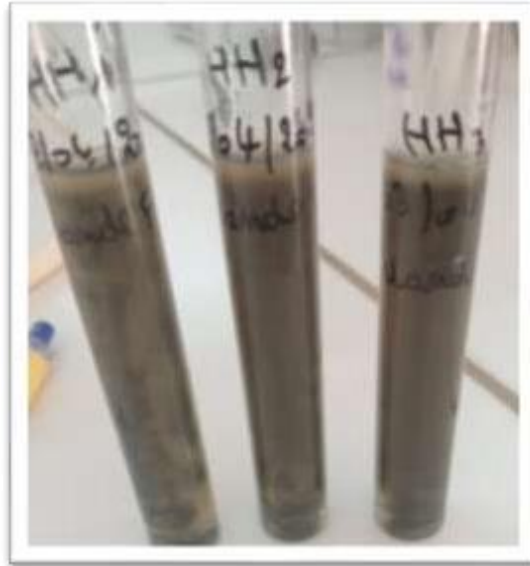
- Aérobie-anaérobiefacultatifs : développementsurtoutela hauteurdutube.
- Aérobiestricts :quicultiventuniquementdansla zonesuperficielledutube.
- Anaérobiesstricts: quicultiventuniquementenprofondeurdutube.
- Micro-aérophiles : formation d’un anneau dans la zone intermédiaire.

Les résultats obtenus sur le milieu viande-foie montrent les 3 isolats se développent dans toute la longueur de pique, cela indique que ce sont des bactéries aérobie-anaérobiefacultatifs.

Les résultats sont montrés dans le (tab8) et la (fig23)

**Tableau 8.**Résultats de test viande foie

Isolats	HH2	HH3	HH5
<b>Testviandefoie</b>	Aéro-anaérobie Facultatif	Aéro-anaérobie Facultatif	Aéroanaérobie Facultative



**Figure 23.** Résultats de test viande foie (HH5, HH2, HH3)

### **Mannitol mobilité**

Selon **JoffinetLeyral, (2006)**, les résultats sont lus comme suit : Fermentation de mannitol: Si la bactérie fermente le mannitol, le milieu change de couleur, passant du rouge au jaune (mannitol +), si la bactérie ne fermente pas le mannitol, le milieu reste rouge (mannitol-).

La mobilité: Les bactéries mobiles produisent une croissance diffuse dans tout le milieu et les bactéries non mobiles ne se développent que le long de la ligne d'inoculation.

Les résultats obtenus sur le milieu mannitol mobilité montrent que 2 isolats HH2 et HH5 fermentent le mannitol (mannitol positif+) et HH3 (mannitol négatif), Concernant la mobilité, les trois isolats se sont développés uniquement sur le long de la ligne d'inoculation, donc ce sont des bactéries non mobiles (immobiles). La (fig24) montre les résultats obtenus.



**Figure 24.** Résultats de test de Mannitol mobilité) (HH5, HH2, HH3)

### Citrate de Simmons

L'utilisation de citrate comme source de carbone se traduit par un virage de couleur du vert vers le bleu (citrate positive +), Pas de changement de la couleur de milieu (reste verte) indique que cette bactérie est citrate négative (-) (Joffin et Leyral, 2006).

Après 24h d'incubation nous avons remarqué une apparition d'une couleur bleue intense dans l'inclinaison de tube HH2 cela indique que est citrate positive (+), par contre les tubes HH3 et HH5 restés vert (Tab 9).

**Tableau 9.** Résultats de test Citrate de Simmons

Isolats	HH2	HH3	HH5
Hydrolyse de citrate	Positif	Négatif	Négatif

### Milieu TSI (Triple Sugar Iron Agar)

Selon (Joffin et Leyral, 2006), les résultats sont lus comme suit:

Si le culot de tube devient jaune et la pentereste rouge, Il se réfère uniquement à la fermentation du glucose (glucose +, lactose et saccharose -).

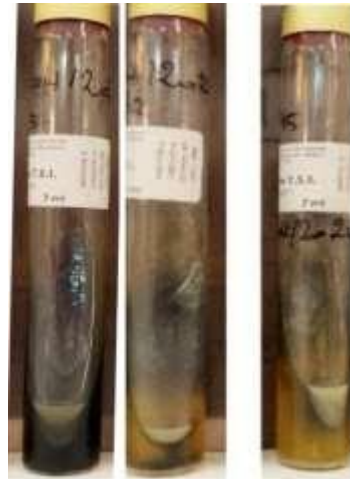
Si le culot du tube et la pente deviennent jaunes, Il se réfère à la fermentation du glucose et du lactose (glucose +, lactose et/ou saccharose +). Si le culot du tube est rouge et la pente devient jaune, Il se réfère uniquement à la fermentation du lactose et/ou saccharose (glucose -, lactose et saccharose +).

Si la gélose se divise, donc cette bactérie produise du gaz. Si on trouve des précipités noirs dans la gélose, donc cette bactérie capable de produire du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S).

Selon les résultats obtenus, les 3 isolats ont dégradé le glucose, mais aucun isolat n'est capable de dégrader ni le lactose ni le saccharose. Concernant la production de gaz et H<sub>2</sub>S, Aucun des isolats n'a produit ni de gaz ni du sulfure d'hydrogène (Tab10 et Figure25).

**Tableau 10.** Résultats de test TSI

	HH2	HH3	HH5
<b>Glucose</b>	+	-	+
<b>Lactose</b>	-	-	-
<b>Saccharose</b>	-	-	-
<b>Gaz</b>	-	-	-
<b>H<sub>2</sub>S</b>	+	+	+



**Figure25.** test TSI (HH3, HH2, HH5).

### Test de Clark & Lubs

Réaction au rouge de méthyle (RM) : Une coloration rouge du milieu est considérée comme test positive. Une coloration jaune du milieu est considérée comme test négative.

Réaction de Voges-Proskauer (VP) : La production d'acétylméthylcarbinol se révèle par l'apparition d'une coloration rouge en surface du milieu, cela considérée comme test positive (Joffin et Leyral, 2006).

Après la séparation du bouillon en deux tubes et l'addition des réactifs VP1 et VP2, nous avons conclu que tous les isolats sont positif (+), la (fig26) montre les résultats obtenus



**Figure 26.** test Clark & Lubs

## 5. Les tests enzymatiques

### Test MEVAG (milieu Hughet Leifson)

L'utilisation du glucide se traduit par une acidification du milieu révélée par le virage de couleur vert à jaune (la teinte acide de bleu de bromothymol).

Si la couleur de milieu ne change pas et reste verte, cela indique un métabolisme inerte (pas d'utilisation du glucide). Apparition Jaune, cela indique un métabolisme fermentatif ou oxydatif du glucose. Apparition Bleu, cela indique que la bactérie est inerte au glucose (généralement elle utilise les peptides comme source d'énergie).



Figure27. test MEVAG

Tableau 11.Résultat de test MEVAG

	HH2	HH3	HH5
<b>Saccharose</b>	-	-	-
<b>Glucose</b>	-	-	-
<b>Mannose</b>	-	-	-
<b>Lactose</b>	-	-	-
<b>Xylose</b>	-	-	-
<b>Maltose</b>	-	-	-
<b>Cellobiose10%</b>	-	+	-

**Test LDC et ADH**

Le (tableau.12) et la (fig. 28) résumes les résultats obtenus dans le test LDC et ADH.

**Tableau 12.**Résultats de test LDC et LDH

	HH2	HH3	HH5
<b>LDC</b>	+	+	+
<b>ADH</b>	-	-	+



**Figure28.** Test LDC ET LDH

**IsolementsurmilieuKing AetKing B**

L'ensemencement des bactéries a permis d'obtenir une croissance bactérienne des 3 isolats après 24 heures d'incubation sur les milieux King A et King B.

NousAvon vu une fluorescent sur milieu King B pour tous les isolats et aucune fluorescent sur milieu KingA . la (fig29) et la (fig 30) montrent les résultats.



**Figure29.** résultats de KingB(HH5,HH2,HH3 )



**Figure30.**Résultats de King A (HH5, HH2, HH3)

### Test d'estérase

Une apparition des précipités d'acide gras indique la présence de l'estérase. Selon les résultats obtenus, les isolats HH2 et HH3 sont des bactérie estérase négatives (-), et l'isolat HH5 est estérase Positive (+) la (fig31) montre les résultats.

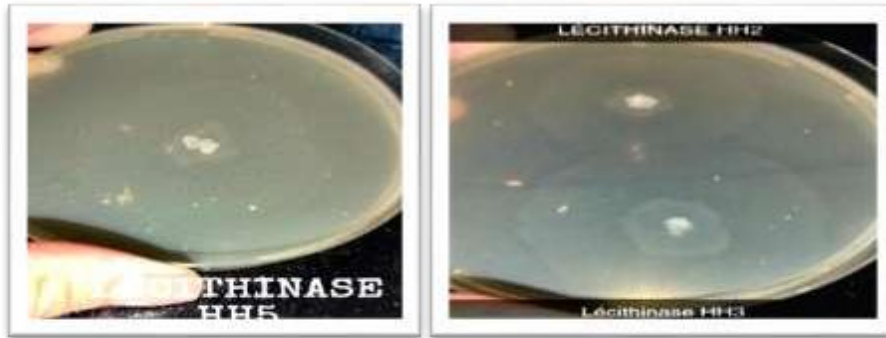


**Figure 31.**résultats de test d'estérase.



### Test de Lécithinase

Apparition d'une zone blanche indique une activité positive de la lécithinase . les 3 isolats sont positif. La (fig32)



**Figure 32.** Résultats de test de l'écithinase

### Test de Gélatinase

-Suspension de particules noires libérées du film ou du disque : Gélatinase+

-Disque ou film intact éclaircissement du film : Gélatinase-. Selon les résultats obtenus, HH2 et HH3 sont des bactéries Gélatinase Positifs (+) et l'isolat HH5 est Gélatinase négatif (-).La (fig33) montre les résultats obtenus :



**Figure33.** résultats de test de gélatinase.

### Test de lipase

Apparition des précipitations autour de la colonie indique la dégradation des lipides cela considéré comme lipase positif. Selon les résultats obtenus HH3 et HH5 sont des bactéries lipase négatives(-) et l'isolat HH2 est lipase positif. La (figure34) montre les résultats obtenus :

**Figure.34** : test de lipase.



### Dégradation de l'amidon

Apparition d'une zone bleu indique que la bactérie elle dégrade l'amidon. Selon les résultats obtenus, les isolats HH2 et HH3 négatives (-), et l'isolat HH5 est positive (+). la (figure35) montre les résultats .



**Figure35.** Résultats de test de l'amidon.

### Test de pectine

Apparition d'un halo clair autour de la colonie indique une activité positive de pectine. Selon les résultats obtenus les isolats HH2 et HH5 sont pectine négatif (-) et l'isolat HH3 est pectine positif(+). La (figure36) montre les résultats obtenus :

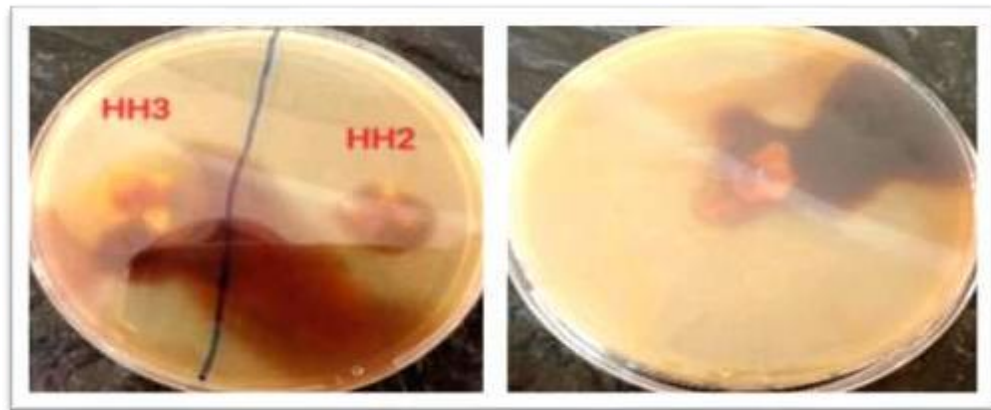


Figure 36. Résultats de test de pectine

## 6. Antibiogramme

La méthode de diffusion sur milieu de culture a donné des résultats satisfaisant. La mesure de la zone d'inhibition a révélée des zones variant de 1.5 mm à 2.6mm. Les dix antibiotiques utilisés pour les bactéries ayant des mécanismes d'action différents sélectionnent des bactéries antibiorésistantes qui se diffèrent d'entre elles selon l'origine d'isolement et la résistance ou la sensibilité envers ces antibiotiques. La figure 37 représente les zones obtenues suite à la résistance des isolats aux antibiotiques utilisés.

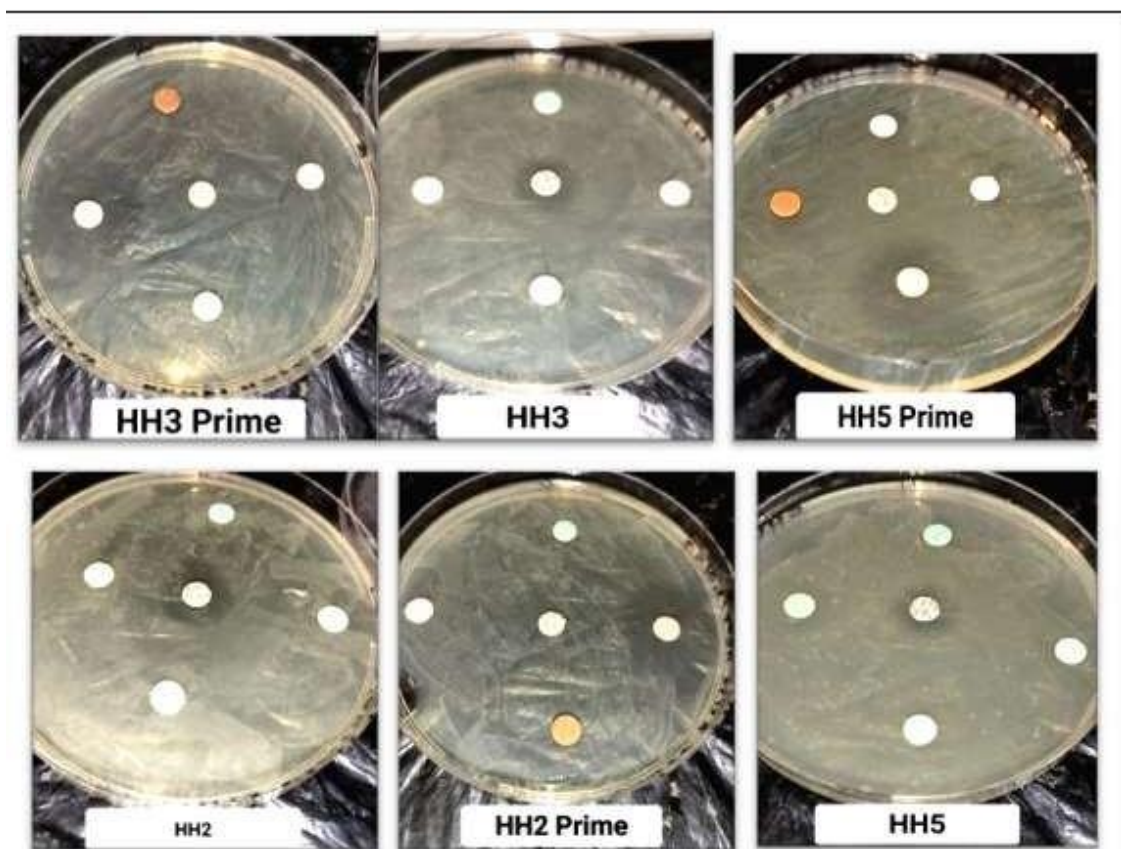


Figure37 : test de résistance aux antibiotiques par méthode de

Les zones varient entre 1.5 et 2.6 mm, Les (tableaux 13,14) montre les résultats obtenus :

**Tableau13.** Diamètre de la zone d’inhibition des antibiotiques en contact direct avec les isolats

	<b>OX</b>	<b>PEN</b>	<b>SP</b>	<b>AML</b>	<b>AMP</b>	<b>GM</b>	<b>KAN</b>	<b>VAN</b>	<b>CFZ</b>	<b>TE</b>
<b>HH2</b>	0	0	0	0	0	1.5cm	2.6cm	0	0	0
<b>HH3</b>	0	0	0	0	0	1.6cm	2.6cm	0	0	0
<b>HH5</b>	0	0	0	0	0	1.5cm	2.6cm	0	0	0

**Tableau14.** Profil d’antibiorésistance des isolats

	<b>OX</b>	<b>PEN</b>	<b>SP</b>	<b>AML</b>	<b>AMP</b>	<b>GM</b>	<b>KAN</b>	<b>VAN</b>	<b>CFZ</b>	<b>TE</b>
<b>HH2</b>	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R
<b>HH3</b>	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R
<b>HH5</b>	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R

**R : résistante                      s : sensible**

Le (tableau 15) résume les résultats de tous les tests biochimique et enzymatique.

**Tableau 15.** Résultats des tests biochimiques et enzymatique

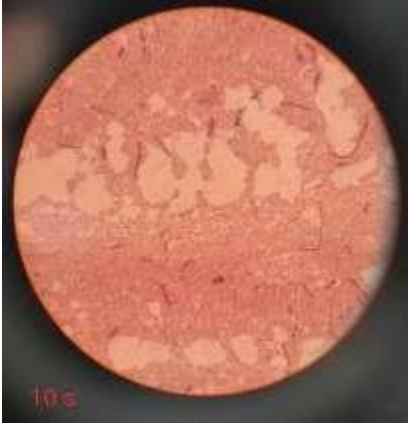

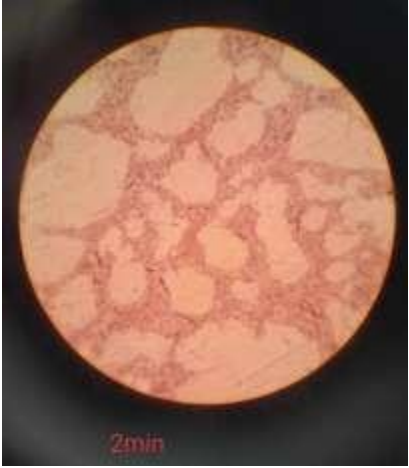
<b>Isolat</b>	<b>HH2</b>	<b>HH3</b>	<b>HH5</b>
<b>Tests</b>			
<b>Forme</b>	coccobacille	Bacille	Coccobacille
<b>Gram</b>	-	+	-
<b>Mobilité</b>	+	+	+
<b>Type respiratoires</b>	Aéro-anaérobie facultative	Aéro-anaérobie facultatif	Aéro-anaérobie facultative
<b>Enzyme</b>			
<b>Catalse</b>	+	+	+

<b>respiratoire</b>	<b>Nitrate</b>	+	+	+
<b>Milieu TSI</b>	<b>Glucose</b>	+	-	+
	<b>Lactose</b>	-	-	-
	<b>Saccharose</b>	-	-	-
	<b>Gaz</b>	-	-	-
	<b>H2S</b>	+	+	+
<b>Test Clark et Lubs</b>		+	+	+
<b>Mannitol mobilité</b>		+	+	-
<b>Citrate de Cimmons</b>		+	-	-
<b>King A</b>		-	-	-
<b>King B</b>		+	+	+
<b>Test enzymatique</b>	<b>Estérase</b>	-	-	+
	<b>Lécithinase</b>	+	+	+
	<b>Gélatinase</b>	+	+	+
	<b>Lipase</b>	+	-	-
	<b>Dégradation d'amidon</b>	-	-	+
	<b>Pectine</b>	-	+	-
	<b>LDC</b>	+	+	+
	<b>ADH</b>	-	-	+
<b>Test MEVAG</b>	<b>Saccharose</b>	-	-	-
	<b>Glucose</b>	-	-	-
	<b>Mannose</b>	-	-	-
	<b>Lactose</b>	-	-	-
	<b>Xylose</b>	-	-	-
	<b>Maltose</b>	-	-	-
	<b>Cellobiose</b>	-	+	-

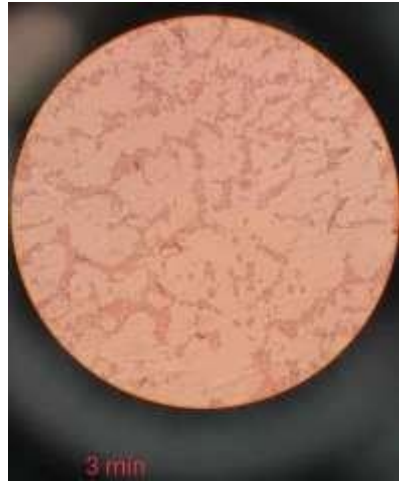
## 7. Les résultats après UV

## 7.1 Coloration de gram

Tableau 16. Résultats de coloration de gram après UV

Isolats	Forme	Gram	Observation microscopique
HH2 après 10s de UV	Bacille	Gram négatif(-)	
HH2 après 10s de UV	Bacille	Gram négatif(-)	
après 2min de UV	Bacille	Gram négatif(-)	



<p><b>HH2 après 3min de UV</b></p>	<p>Bacille</p>	<p>Gram négatif(-)</p>	
------------------------------------	----------------	------------------------	--

**Test catalase**

Selon les résultats obtenus, tous les isolats possèdent l'enzyme de catalase (+).

**Mannitol mobilité**

**Tableau 17.** Résultats de test de mannitol mobilité de l'isolat HH2 Après UV

<p><b>Fermentation de mannitol Mobilité</b></p>	<p>T : 4s</p>	<p>T :40s</p>	<p>T :2min</p>	<p>T :3min</p>
	<p>+</p>	<p>+</p>	<p>+</p>	<p>-</p>
	<p>immobile</p>	<p>immobile</p>	<p>Immuable</p>	<p>immobile</p>



**Figure38.**Résultats de test mannitol mobilité après UV (4s,40s,2min,3min)

**Nitrate réductase**

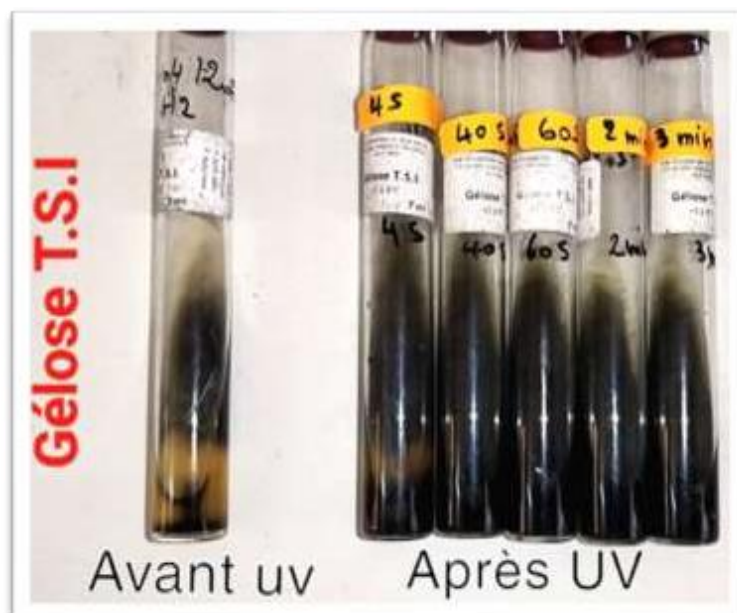
Selon les résultats obtenus, tous les isolats testés après UV possèdent la nitrate réductase (Fig39).



**Figure39.** Résultat de test nitrate réductase après UV

**Milieu TSI (Triple Iron Agar)**

Selon les résultats obtenus, les 5 isolats après UV ont produit du sulfure d'hydrogène (Tab18 Et Fig 40).





**Figure40.** Résultats de test TSI après UV**Tableau 18.** Résultats de test TSI après UV

	Après 4s	Après 40s	Après 60s	Après 2min	Après 3min
<b>Glucose</b>	-	-	-	-	-
<b>Lactose</b>	-	-	-	-	-
<b>Saccharose</b>	-	-	-	-	-
<b>Gaz</b>	-	-	-	-	-
<b>H<sub>2</sub>S</b>	+	+	+	+	+

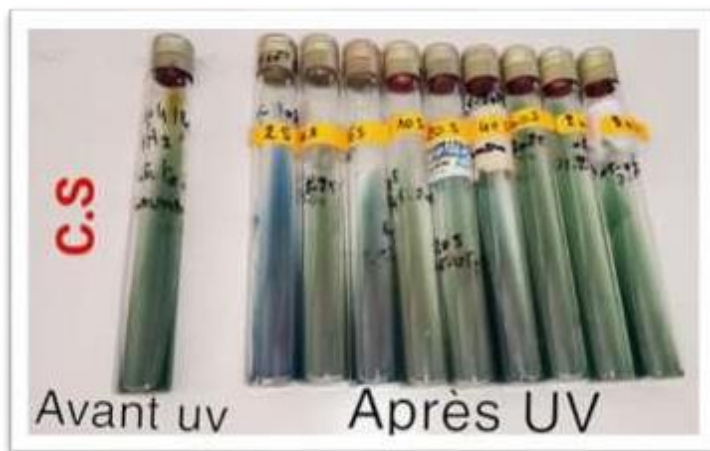
+ : Dégradation/production, - : Pas de dégradation /production

#### **Citrate de Simmons**

Après 24h d'incubation nous avons remarqué une apparition d'une couleur bleu intense juste dans l'inclinaison de tube HH2 après 2s de UV cela indique que ce isolat est citrate positive et le reste sont citrate négatif (Tab19),( Fig41 )

**Tableau 19.** Résultats de test Citrate de Simmons après UV

Isolats	Après 2s	Après 4s	Après 6s	Après 10s	Après 20s	Après 30s	Après 40s	Après 60s	Après 2min	Après 3min
Hydrolyse de citrate	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-



**Figure41.** Résultats de test Citrate de Simmons après UV

### Discussion

Les mutations induites par les rayons ultraviolets (UV) chez les bactéries indigènes isolées de zones humides sont un sujet d'intérêt pour plusieurs raisons, notamment pour comprendre les mécanismes de résistance aux UV et l'adaptation des bactéries à leur environnement.

Les zones humides abritent des communautés bactériennes diverses qui peuvent être exposées à des niveaux variables de rayonnement UV. L'étude des mutations induites par les UV chez ces bactéries peut offrir des insights précieux, vu leur viabilité après exposition aux UV plusieurs minutes. Le premier critère à relever est : l'**Adaptation**. Les bactéries des zones humides peuvent avoir développé des adaptations spécifiques pour survivre dans des environnements avec des niveaux élevés d'UV. Les **Diversités Génétiques** : Les environnements humides peuvent servir de réservoirs de diversité génétique, avec des bactéries montrant des taux variés de mutations et des capacités de réparation de l'ADN. La **Résistance et Écologie** : Comprendre comment ces bactéries répondent aux UV peut aider à comprendre leurs rôles écologiques et leurs interactions avec d'autres organismes dans les zones humides.

En résumé, les études sur les mutations induites par les UV chez les bactéries indigènes des zones humides contribuent à notre compréhension de la dynamique des populations microbiennes, de leurs mécanismes d'adaptation et de survie, ainsi que de l'impact environnemental des rayonnements UV. Plusieurs chercheurs ont étudié les effets des UV sur les bactéries indigènes, en particulier celles provenant de divers environnements tels que les zones humides. **Sinha, R. P., & Häder, D.-P. (2002)** a contribué par l'étude des réponses des bactéries isolées du golfe Persique à la radiation UV. Ces études contribuent à notre compréhension des mécanismes par lesquels les bactéries des zones humides s'adaptent aux expositions aux UV, ce qui est crucial pour évaluer les impacts écologiques et environnementaux des changements dans les niveaux de radiation UV.



***Conclusion***

***Et perspectives***

# Conclusion et perspectives

---

## Conclusion

La zone humide de la Macta abrite une grande variété d'espèces, dont certaines sont rares ou menacées. Elle est particulièrement importante pour les oiseaux migrateurs qui utilisent cet espace comme halte migratoire ou comme site de nidification.

Ce travail est une approche dans coté bactériologique de cette zone humide de la Macta classées par la Convention internationale de Ramsar pour la zone de Macta, côté Mascara.

Nous avons pu sélectionner 3 isolats bactériens (HH2, HH3, HH5 ) dont la pureté a été contrôlée sur la base de leurs caractéristiques morphologiques (aspect colonial) ainsi que par examen microscopique classique « examen frais » et « coloration de Gram » puis identifiées par des tests biochimiques « oxydase et catalase » et tests enzymatiques et antibiotiques...

Ensuite, nous avons exposé les bactéries à la lumière ultraviolette, ce qui les a amenées à se modifier, et nous avons remarqué des changements chez certaines d'entre eux dans leur type respiratoire et l'utilisation des molécules comme le citrate. D'autres tests doivent être élaborés pour comprendre le fonctionnement de ces microorganismes dans ces zones.

Les bactéries des zones humides sont cruciales pour la santé et la fonctionnalité de ces écosystèmes. Elles contribuent à la régulation des cycles biogéochimiques, à la purification de l'eau et à la maintenance de la biodiversité. Cependant, les zones humides sont souvent menacées par les activités humaines telles que l'urbanisation, l'agriculture intensive et la pollution.

La protection et la restauration de cette zone sont essentielles pour garantir sa pérennité et ses services écologiques pour les générations futures.

## Perspectives

Le présent travail aura donc permis d'améliorer nos connaissances sur l'importance des zones humides et la nécessité de les protéger des dégradations, ainsi sur la microflore aquatique bactériennes qui joue un rôle primordiale dans l'équilibre de ces écosystèmes humides, cela nous a permis de conclure avec les perspectives suivants :

1. Revalorisation des écosystèmes humides, en particulier ceux qui sont classés en convention internationale de Ramsar par le biais de la recherche scientifique.
2. Faire élargir l'inventaire de la flore microbienne par d'autres identifications enrichissantes de micro-organismes aquatiques colonisant ces zones humides
3. Utiliser d'autres variétés de milieux sélectifs pour la sélection d'autres souches

## Conclusion et perspectives

---

4. Elargir le spectre de la caractérisation enzymatique en identifiant d'autres enzymes qui ont presque la même importance biotechnologique que les enzymes polysaccharolytiques.
5. Essayer de faire une extraction de ces enzymes par une technique de séparation.
6. Tester les caractéristiques chimiques de ces enzymes tel la  $T^{\circ}$ , PH optimum surtout que les enzymes thermostables ont une importance biotechnologique du point de vue leur utilisation en industrie comme biocatalyseurs qui supportent et tolèrent les conditions extrêmes comme les hautes  $T^{\circ}$ .
7. Identification des gènes qui codent pour les enzymes extracellulaires responsable de la dégradation des polysaccharides par un séquençage.
8. Essayer de mettre la lumière sur les bactériophages aquatiques.



**Référence Bibliographique**

### Référence Bibliographique

1. Astier-Théfenne, H., Wolf, A., Darles, C., & Garnotel, É. (2014). Vérification des Performances d'une méthode selon le SH FORM 44 : application à la coloration de Gram. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2014(461), 37–46.
2. Bahi .K., 2012. Contribution à l'étude phytoécologique des zones humides de la région d'Oran. Thèse de magister. Faculté des sciences. Université d'ORAN -essenia. 16p.
3. Basińska, A. M., Reczuga, M. K., Gąbka, M., Stróżecki, M., Łuców, D., Samson, M., ... Lamentowicz, M. (2020). Experimental warming and precipitation reduction affect the biomass of microbial communities in a Sphagnum peatland. *Ecological Indicators*, 112.
4. Boukroune H., (2008). Contribution à l'étude biologique du pouvoir auto-épurateur de l'eau cas du marais d'El-Kennar. Mémoire de Magister. Université de Jijel. 119p
5. Bousaaroura A., 2011. Etude de la qualité bactériologique et physico-chimique du lac Tonga. Mémoire de master II. université de 8Mai 1945 Guelma p 20 ,53 ,52.
6. Carbonelle D., Kouyoumdjian S., et Audurier A. (1988). *Bactériologie médicale*
7. Colin R . Jackson , Scarlett C. Vallaire .Effect of Salinity and nutrients on microbial assemblages in Louisiana Wetland Sédiments . *WETLAND*, pp.277\_287  
d'Algerie. Documentation interne.
8. De Vos P., Garrity G-M., Jones D., Krieg N-R., Ludwig W., Rainey F-A., Schleifer K-H. And Whitman W-B. (2009). *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology*, 7nd edition. Volume three, the firmicutes. Springer, New York, USA. Didderen I, Destain .
9. De Vos, GM Garrity, D Jones, NR Krieg, W Ludwig, FA Rainey, K-H Schleifer, WB Whitman .2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 3. The Firmicutes.
10. Du-bassin/les-rivieresles-tourbieres-du-bassin.h Marchal .N., Bourdou .J.L., Richard .C., 1982. *Les milieux de cultures*. Edition Doin., 482p.
11. Evelyn M. Witkin . Ultraviolet -Induced Mutation and DNA Repair . *Annual Riview of Microbiologie* 23, pp. 487 -514.



## Référence Bibliographique

---

12. Fenchel, T. (2013). Microorganisms (Microbes), Role of. *Encyclopedia of Biodiversity*, 299–308.
13. Feng Gao , Guochen Liu , Zonglian She , Junyuan Ji , Mengchun Gao , Yangguo Zhao , Liang Guo , Chunji Jin ,C.(2021 ) . Effect of Salinity on pollutant removal and bacterial community in a partially saturated vertical flow constructed Wetland. *Bioresource Technology* , 329 ,124890.
14. Garzon.P, 2012. (Page consulté 05/05/2012).Contrat de rivière Arly. Doron. Chaise : Les rivières/ Les tourbière du bassin [En ligne]. <http://www.contrat-riviere-arly.com/fr/les-rivieres/les-tourbieres->
15. Huc E. 2011. O-mycoloylation : Caractérisation d'une nouvelle modification
16. J. ILBOUDO, A. SAVADOGO, S. SAMANDOULOGOU, M. ABRE, Mg. SEYDI et A. S. TRAORE. (2016).
17. Joffin, J.N and Lateral,G., (2006).Microbiologie technique. Tom 1. Dictionnaire des techniques. Bordeaux, France: Centre Régional De Documentation Pédagogique, 368 .
18. Kazi Madina Maraz and Ruhul Amin Khan , 2021 , An overview on impact and application of microorganisms on human health, medicine and environment . Institute of Radiation and Polymer Technology, Atomic Energy Research Establishment, Savar, Dhaka, Bangladesh. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 14(01), 089–104
19. Krashevskia, V., Sandmann, D., Maraun, M., & Scheu, S. (2012). Consequences of exclusion of precipitation on microorganisms and microbial consumers in montane tropical rainforests. *Oecologia*, 170(4), 1067–1076.
20. Lebres E. (2004c). Identification biochimique des micro-organismes, Institut Pasteur
21. McCullough, C. D., & Horwitz, P. (2010). Vulnerability of organic acid tolerant wetland biota to the effects of inorganic acidification. *Science of The Total Environment*, 408(8), 1868–1877.
22. Mu, X., Zhang, S., Lv, X., Ma, Y., Zhang, Z., & Han, B. (2021). Water flow and temperature drove epiphytic microbial community shift : Insight into nutrient removal in constructed wetlands from microbial assemblage and co-occurrence patterns. *Bioresource Technology*, 332, 1251 .
23. Pengshuai Shao , Hongyan Han , Jingkuan Sun , Hongjun Yang ,H.Xie .(2022) . Salinity Effects on Microbial Derived -C of Coastal Wetland Soils in the Yellow River Delta.*Frontiers in Ecology*

## Référence Bibliographique

---

and Evolution .

24. Performances d'une méthode selon le SH FORM 44 : application à la coloration de Gram. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2014(461), 37–46.
25. Posttra ductionnelle de petites protéines d'enveloppe chez *Corynebacterineae*. Thèse de Doctorat : Université de Toulouse, P :169.
26. Prescott L. M., Willey J. M., Sherwood L. M. ET Woolverton C. J. (2018). *Microbiologie*. De Boeck supérieur. France. 1120p.
27. Rahal .K., 2005. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale .Selon les recommandations de l'OMS ; Alger, ALGERIE.,116 p.
28. Sidi Baba .A. et Bent Mohammed .A., 2008. Manuel de travaux pratiques de microbiologie BG2. Université de Nouakchott, facultés des sciences et techniques, département de biologie.1-27p.
29. T. Sullivan, Victoria P. Barth , Ricky W. Lewis ( 2017) Soil acidity impacts beneficial soil microorganisms . *Environmental Science, Biology* .
30. T. V . Ramachandra ,k .S. Asulbha , R . Jaishanker . 2022 , 2023 . Editorial Wetlands for human well – being . *journal of environmental Biology* .
31. techniques usuelles. *Méd. Mal. Inf. France*. 251 p.
32. W. K. Balwan , Sachdeep jour .2021 . Watland- An Ecological Boon for the Environnement. East African Scholars of Agriculture ans Life Sciences.
33. Weixing Song , Junyuan Ji .(2020). The effect of salinity on the microbial community of novel constructed Wetland . *Earth and Environmental Science*, 508 .
34. Wenbing Li , Xiaofei Lv , Junchao Ruan , Miao Yu , Yao – Bin Song , Junbao Yu , Min Dong . 2019 . Variations in Soil Bacterial Composition and Diversity in Newly Formed Coastal Wetlands. *Frontiers in Microbiology*, 9.
35. Yinchu Liu, Zhen Guo, Pei-dong Zhang, Jun Du, P. Gao, Zhiwei Zhang . 2022 . Diversity and Structure of Vegetation Rhizosphere Bacterial Community in Various Habitats of Liaohekou Coastal Wetlands . *Sustainability* .



# **Annexes**

## Annexe

---

<b>Milieu</b>	<b>Utilisations</b>	<b>Composition</b>
Bouillon nutritive ou BN	Milieu liquide non-sélectif utiliser pour l'enrichissement des Microorganismes.	Peptone: 10,0g Extrait de viande : 10,0g Chlorure de sodium: 5,0g Eau distillée : 1000ml PH=7
Gélose nutritive ou GN	Milieu solide de culture non- sélectif utiliser pour l'isolement et la purification des Microorganismes.	Extrait de viande : 10,0g Extrait de levure: 2,5g Peptone : 5,0g Chlorure de sodium: 5,0g Agar : 15,0 g Eau distillée: 1000ml PH : 7,0
Bouillon nitraté	Milieu utiliser pour recherche la production de nitrate- réductase.	Extrait de viande: 3g Peptone : 4g Protéose peptonen°3: 1g Potassium nitrate : 1g Eau distillée : 1000 ml PH: 7
Gélose viande foie (Gélose VF)	Milieu utiliser pour la mettre en évidence le mode respiratoire des bactéries, ainsi que pour l'isolement en profondeur des bactéries anaérobies strictes.	Viande de foie: 30g Glucose : 2g Agar: 6g Eau distillée: 1000ml PH : 7,4

## Annexe

Milieu TSI (taipesu geriron agar)	Utiliser pour une identification basée sur la fermentation du glucose, du lactose, du saccharose et sur la production de gaz et d'H <sub>2</sub> S.	Extrait de viande: 3g Extrait de levure: 3g Peptone : 20g Chlorure de sodium: 5g Lactose: 10g Saccharose: 10g Glucose : 1g Sulfate ferreux ammoniacal : 300mg Rouge de phénol : 24mg Thiosulfate de sodium anhydre: 300mg Agar: 11g Eau distillée: 1000ml PH=7,4
Mannitol mobilité	Milieu semi-solide qui permet de déterminer la mobilité et la fermentation du mannitol par les bactéries.	Peptone: 20 g Nitrate de potassium: 1 g Mannitol : 2 g Rouge de phénol: 140mg Agar : 4 g Eau distillée: 1000ml PH = 8,1
Citrate de Simmons.	Milieu permet l'étude de l'utilisation du citrate (acide organique) comme seule source de carbone par la bactérie.	Citrate de sodium : 1g Chlorure de sodium : 5g Sulfate de magnésium : 200mg Dihydrogène phosphate d'ammonium : 1g Monohydrogène phosphate de potassium 1g Bleu de bromothymol: 80mg Agar: 13g Eau distillée: 1000ml PH=6 ,8
Milieu Hughet Leifson (MEVAG)	Utiliser pour la mise en évidence de la voie d'attaque des glucides par l'utilisation des milieux contenant un seul glucide et bleu de bromothymol (BBT) comme un indicateur de pH.	Tryptone: 2g Bleu de bromothymol y mol: 0,03g Chlorure de sodium: 5g Hydrogène phosphate de potassium : 0,3g Agar-agar: 2,5g Eau distillée: 1000ml PH = 7,1
Milieu King A	Milieu permet l'identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , par la favorisation de la production de pyocyanine.	Peptone: 20g Glycero : 10g Sulfate de potassium: 10g Chlorure de magnésium : 1,4g Agar purifiés : 12g Eau distillée 1000ml PH = 7, 2

## Annexe

---

MilieuKing B	Milieu favorise la synthèse de la pyoverdine, un pigment vert fluorescent produit par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et d'autre espaces de <i>Pseudomonas</i> comme <i>P.fluorescens</i> et <i>P.putida</i> .	Peptone dite "B": 20,0g Glycérol : 10,0 g hydrogénophosphate de potassium : 1,5 g Sulfate de magnésium heptahydraté : 1,5 g Agar purifié : 12,0 g Eau distillée 1000 ml PH = 7,2
Milieu de Clark et lubs	Milieu permet l'étude des produits de fermentation du glucose et la différenciation entre les fermentations acide butanediolique et acides mixtes.	Peptone: 5g Glucose: 5g Hydrogène phosphate de potassium : 5g Eau distillée 1000ml Ph=7