République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Echahid chiekh Larbi Tebessi –Tebessa-

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

En : Science biologique

Option : microbiologie appliquée

Par :

M^elle^. Belouaar Soumaya & M^elle^. Bougherara Djihene

Intitulée :

Criblage du pouvoir bioactif des algues et des cyanobactéries

Devant le jury :

M.Mechai Abd elbasset	Prof	Université de Tébessa	Président
Mm. Metrouh Roumaissa	MCB	Université de Tébessa	Rapporteur
Mm. Laadjel Rania	MCB	Université de Tébessa	Examinateur

Date de soutenance : 02 / 06 / 2025

Remerciements

En premier lieu et avant tout nous tenons à remercier DIEU le tout puissant qui nous avons donné le courage, la patience de nous savoir guidé vers le droit chemin de nous avoir aidée tout au long de nos années d'études et la force de terminer ce travail.

Nous tenons à remercier particulièrement mon encadreur,
Mme dr.metrouh roumaissa
pour ça haute compétence, ces qualités humaines, et ces conseils judicieux qui ont été pour nous une source inestimable de réconfort et d'encouragement pour l'accomplissement de ce travail.
l'expression de notre profonde gratitude.

Nous exprimons tous mes remerciements à l'ensemble des membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail

je souhaite adresser mes remerciements à tout l'ensemble du personnel de laboratoire de microbiologie en particulier : mdm imane et m elle future dr hmimed rayene pour son aide précieuse

enfin ma profonde gratitude va à l'égarde de toutes les personnes qui de prés ou de loin ont contribué à la réalisation de ce modeste travail

Dédicaces

Dédicace à l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père (Nourredine)

À ma mère (Messaouda) pour son amour, et qu'elle m'a toujours accordé en témoignage de ma reconnaissance envers sa confiance, ses sacrifices et sa tendresse.

À mes chers frères (Zineedine, Salahedine) pour leur dévouement, leur compréhension et leur amour pour moi.

À mon cher amie et binôme (Djihane) pour leur soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

À mon oncle (Abed Elhamid)qui m'a aidé à recueillir des échantillons et ses filles (Sara, Rayane et Isra).

À mon cher amie et ma sœur de cœur (amani gheraibia) qui m'a soutenue durant les moments difficiles de ma vie, que Dieu protège notre amitié.

À mon amie que j'ai rencontrée à l'université (Nermine Haouam) pour son aide, sa sincérité, sa compréhension et son amour sans nombre pour moi.

À les petits poussins (mariem habeb , isra habeb, souhaib habeb et Yazan soudan).

Que Dieu vous protège et prenne soin de vous, vous êtes le plus bel ajout à la famille.

BELOUAAR Soumaya

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à

À mes très chers parents, les prunelles de mes yeux.

À ma mère NADIA qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts

pour que j'atteigne ce niveau, pour sa tendresse

et son encouragement pendant toute ma vie.

À mon cher papa SAMIR pour leur générosité et leurs sacrifices,

qui a su se montrer patient, compréhensif,

et je vous dis merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Que Dieu vous procure santé, prospérité et bonheur...

À ma chère soeur Roumaissa et son époux Achref

À mon cher frère MOUHAMED

À ma princesse RAGHAD et mon prince SAMIR

À ma binôme et ma proche amie : SOUMAYA

À mon cousin saber qui aidez-moi pendant la phase de collecte d'échantillons

Mes amies : AMIRA, AMANI , BAHIA et LOUBNA

Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

BOUGHERARA Djihane

ملخص:

البكتيريا الزرقاء والطحالب المجهرية هي كائنات دقيقة وحيدة الخلية أو خيطية وحيدة الخلية أو كائنات دقيقة خيطية تلعب دوراً رئيسياً في النظم البيئية المائية والبرية.

الهدف من هذه الدراسة هو عزل وتحديد الطحالب الدقيقة والبكتيريا الزرقاء التي تنتج جزيئات نشطة بيولوجياً، من عدة مواقع في أربع ولايات: تبسة ,سوق أهراس ,الطارف وعنابة. كما تتضمن الدراسة تقييمًا لإمكانية استخدامها في تطبيقات المعالجة الحيوية.

يبدأ الاستزراع المخبري بعزل المستعمرات على وسائط مناسبة مثل وسط BG-11 أو وسط زروق، باستخدام تقنيات مثل التخفيف المتسلسل أو التخصيب أو النشر. يتم بعد ذلك تحديد المستعمرات التي تم الحصول عليها على أساس خصائصها العيانية (الشكل واللون والملمس) والمجهرية (شكل الخلية، وتنظيم الخيوط، وما إلى ذلك). مكنتنا عملية العزل من تنقية خمس وثلاثين سلالة طحلبية بدائية النواة وحقيقية النواة تنتمي إلى أجناس

Cyanobium sp., *Synechococcus* sp., *Gloeocapsa* sp., *Leptolyngbya* sp., *Chlamydomonas* sp., *Navicula*sp., *Pseudanabaena* spp., *Tetraspora* sp. et *Rhodella* sp..

تُصنَّف السلالات الطحلبية التي تم الحصول عليها كمنتجة لمستقبلات ثانوية نشطة بيولوجيًا ذات نشاط مضاد للبكتيريا. هذه الجزيئات قادرة على تثبيط نمو السلالات البكتيرية المؤشرة، بما في ذلك السلالات متعددة المقاومة. يتم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة الانتشار الجيد، والتي تقيس منطقة التثبيط حول المستخلصات المختبرة.

بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم قوة مضادات الأكسدة للسلالات باستخدام اختبار القوة المختزلة لمضادات الأكسدة الحديديّة .(FRAP) كشف هذا الاختبار عن قوة اختزال كبيرة في تسع عشرة سلالة معزولة بنسب متفاوتة من الاختزال. تم تحديد السلالة ذات النشاط الاختزالي الأعلى على أنها سلالة السيانوبيوم (سلالة.BM01)

أخيرًا، تلعب مجموعة الطحالب الدقيقة المعزولة والبكتيريا الزرقاء دورًا واعدًا في معالجة مياه الصرف الصحي. وبفضل نشاطها الأيضي، تساهم هذه الكائنات الحية الدقيقة في التحلل المباشر للملوثات العضوية والمعدنية، أو في تكوين الحمأة المنشطة.

الكلمات الرئيسية: الطحالب المجهرية، البكتيريا الزرقاء، BG11، Zarrouk، النشاط المضاد للبكتيريا، مضادات الأكسدة، الحمأة المنشطة.

Résumé :

Les **cyanobactéries** et les **micro algues** sont des micro-organismes photosynthétiques, unicellulaires ou filamenteux, jouent un rôle clé dans les écosystèmes aquatiques et telluriques.

L'objectif de cette étude est l'isolement et l'identification de microalgues et de cyanobactéries productrices de molécules bioactives, à partir de plusieurs sites situés dans quatre wilayas : Tébessa, Souk Ahras, El Tarf et Annaba. L'étude inclut également l'évaluation de leur potentiel pour des applications en biorémédiation.

La culture en laboratoire commence par l'isolement des colonies sur des milieux appropriés tels que le BG-11 ou le milieu de Zarrouk, en utilisant des techniques telles que la dilution en série, l'enrichissement ou l'étalement. Les colonies obtenues sont ensuite identifiées sur la base de leurs caractéristiques macroscopiques (forme, couleur, texture) et microscopiques (morphologie cellulaire, organisation des filaments, etc.)

L'isolement nous a permis de purifier trente-cinq souches procaryotes et eucaryotes algales appartienne aux genre *Cyanobium*sp., *Synechococcus*sp., *Gloeocapsa*sp., *Leptolyngbya*sp., *Chlamydomonas*sp., *Naviculа*sp., *Pseudanabaena*spp., *Tetraspora*sp. et *Rhodella*sp..

Les souches algales obtenues sont classées comme productrices de métabolites secondaires bioactifs présentant une activité antibactérienne significative. Ces molécules sont capables d'inhiber la croissance de souches bactériennes indicatrices, y compris des souches multirésistantes. L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode de diffusion sur puits, qui permet de mesurer la zone d'inhibition autour des extraits testés.

Par ailleurs, le pouvoir antioxydant des souches est évalué à l'aide du test FRAP (FerricReducingAntioxidant Power). Ce test a révélé un pouvoir réducteur important chez dix-neuf souches isolées, avec des pourcentages de réduction variables. La souche présentant l'activité réductrice la plus élevée est identifiée comme Cyanobiumsp. (souche BM01).

Enfin, la collection de microalgues et de cyanobactéries isolées joue également un rôle prometteur dans l'épuration des eaux usées. Grâce à leur activité métabolique, ces microorganismes contribuent à la dégradation directe de contaminants organiques et minéraux, ou à la formation de boues activées.

Mots clé : Microalgues, cyanobactérie, BG11, Zarrouk, activité antibactérienne, antioxydants, boues activées.

Abstract:

Cyanobacteria and **microalgae** are photosynthetic, unicellular or filamentous micro-organisms that play a key role in aquatic and terrestrial ecosystems.

The aim of this study is to isolate and identify bioactive molecule-producing microalgae and cyanobacteria from several sites in four wilayas: Tébessa, Souk Ahras, El Tarf and Annaba. The study also includes an assessment of their potential for bioremediation applications.

Laboratory cultivation begins with the isolation of colonies on suitable media such as BG-11 or Zarrouk medium, using techniques such as serial dilution, enrichment or spreading. The colonies obtained are then identified on the basis of their macroscopic (shape, color, texture) and microscopic (cell morphology, filament organization, microscopic observation etc.) characteristics.

Isolation enabled us to purify thirty-five prokaryotic and eukaryotic algal strains belonging to the genera *Cyanobium* sp., *Synechococcus* sp., *Gloeocapsa* sp., *Leptolyngbya* sp., *Chlamydomonas* sp., *Navicula* sp., *Pseudanabaena* spp., *Tetraspora* sp. et *Rhodella* sp..

The algal strains obtained are classified as producers of bioactive secondary metabolites with significant antibacterial activity. These molecules are capable of inhibiting the growth of indicator bacterial strains, including multi-resistant strains. Antibacterial activity is assessed using the well diffusion method, which measures the zone of inhibition around the tested strains.

In addition, the antioxidant power of the strains was assessed using the FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) test. This test revealed significant reducing power in nineteen isolated strains, with varying percentages of reduction. The strain with the highest reducing activity was identified as *Cyanobium* sp. (strain BM01).

Finally, the collection of isolated microalgae and cyanobacteria also plays a promising role in wastewater treatment. Thanks to their metabolic activity, these microorganisms contribute to the direct degradation of organic and mineral contaminants, or to the formation of activated sludge.

Key words: Microalgae, cyanobacteria, BG11, Zarrouk, antibacterial activity, antioxidants, activated sludge.

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1: STRUCTURE CELLULAIRE DES CYANOBACTERIES (MORYA ET *AL*., 2023) 13
FIGURE 2 : PRINCIPAUX PRODUITS DES REACTIONS LUMINEUSES ET OBSCURES DE LA PHOTOSYNTHESE(MASOJIDEK ET *AL*., 2013)..... 14
FIGURE 3 : STRUCTURES DES TROIS PRINCIPAUX GROUPES DE PIGMENTS DANS LES ALGUES ET LES CYANOBACTERIES – CHLOROPHYLLES(A), PHYCOCYANOBILIN (B) ET CAROTENOÏDES [B-CAROTENE (C) ET VIOLAXANTHINE (D)] (MASOJIDEK ET *AL*., 2013)..... 16
FIGURE 4 : CULTURE ET TRANSFORMATION DES MICRO ALGUES. DES ETANGS OUVERTS (A) PHOTO BIOREACTEURS FERMES (B) DES FERMENTEURS (C) (D) LA FABRICATION DE PRODUITS A BASE DE MICRO ALGUES COMMENCE PAR DES MICRO ALGUES POUR LA PRODUCTION DE BIOMASSE (THORE ET *AL*., 2023) 21
FIGURE 5 : NOURRITURE POUR POISSON (HBH)(NREL,2012). 27
FIGURE 6 : FORMES NUTRITIVES DES MICROALGUES ANONYME., 2011).A:LACHLORELLE (*CHLORELLA VULGARIS*). B : LA SPIRULINE (*ARTHROSPIRA PLATENSIS*)..... 29
FIGURE 7 : PROCEDE DE TRAITEMENT DES EAUX PAR LES MICRO ALGUES (FILALI,2012) 31
FIGURE 8 : BARRAGE MELLEGUE (PHOTO PERSONNELLE) 36
FIGURE 9 : BARRAGE AIN ZERGA (JOURNAL ANNASE,2024)..... 37
FIGURE 10 : BARRAGE SAFSAF ELOUESRA (PHOTO PERSONNELLE) 37
FIGURE 11 : LACS BOURGAS (PHOTO PERSONNELLE)..... 38
FIGURE 12 : LAC DES OISEAUX (PHOTO PERSONNELLE)..... 39
FIGURE 13 : LAC TONGA (PHOTO PERSONNELLE) 39
FIGURE 14 : PLAGE LA CAROUBE (PHOTO PERSONNELLE)..... 40
FIGURE 15 : PLAGE AIN ACHIR (PHOTO PERSONNELLE)..... 41
FIGURE 16: LE TRANSPORT DES ECHANTILLONS(PHOTO PERSONNELLE)..... 43
FIGURE 17 : LES DILUTIONS INCUBEES (PHOTO PERSONNELLE)..... 45
FIGURE 18 : LA CONSERVATION DES SOUCHES OBTENUES (PHOTO PERSONNELLE) 46
FIGURE 19: LES BOITES DE LACTIVITE ANTIBACTERIENNE (PHOTO PERSONNELLE) 48
FIGURE 20 : PHOTO REPRESENTATIF RESULTAT POSITIF 55
FIGURE 21 : LES PROPORTIONS DE SOUCHES OBTENUES 60

FIGURE 22: RESULTAT D'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE SUR *CITROBACTER* 62
FIGURE 23: RESULTAT D'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE SUR *ENETROBACTER CLOACAE* 63
FIGURE 24: RESULTAT D'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE SUR *ESCHERICHIA COLI*.... 63
FIGURE 25 : L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE POSITIVE DES ISOLATS SELON LE SITE DE PRELEVEMENT..... 64
FIGURE 26 : EFFICACITE ANTIBACTERIENNE DES ISOLATS ALGALES EN FONCTION DES SOUCHES INDICATRICES 66
FIGURE 27 : POUVOIR REDUCTEUR DES SOUCHES ALGALES 68
FIGURE 28 : RESULTAT DE LA FORMATION DES BOUES ACTIVEES..... 70

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : LES GROUPES EUCARYOTES DES MICRO ALGUES (CAVALLA,2000).. 7
TABLEAU 2 : LE GROUPE PRINCIPALE PROCARYOTE DES MICRO ALGUES (GARRITY ET *AL.*,2001)..... 8
TABLEAU 3 : ELEMENTS MAJEURS CONSTITUTIFS DES MICRO ALGUES (SIALVE ET STEYER, 2013). 9
TABLEAU 4: REPARTITION DU FRACTIONNEMENT BIOCHIMIQUE D'UNE CELLULE DE MICRO ALGUE (SIALVE ET STEYER, 2013)..... 10
TABLEAU 5: LE MATERIEL UTILISE POUR LES ANALYSES SUR TERRAIN ET AU LABORATOIRE 34
TABLEAU 6: LES ECHANTILLONS PRELEVES (TABLEAU PERSONELLE)..... 41
TABLEAU 10 : RESULTATS D'OBSERVATION DE QUELQUE LETAT FRAIS 51
TABLEAU 11 : TABLEAU REPRESENTATIF DES SOUCHES ISOLEES ET LEURS ORIGINES 55
TABLEAU 12: RESULTAT DES SOUCHES ISOLEE..... 56

LISTE DES ABREVIATION

(mm). :Millimètre

°C : Degré Celsius

µm : Micro mètre

ADN : acide désoxyribonucléique

ATP : Adénosine Triphosphate

C : Carbone

Ca^{2+}: l'ion calcium

CO2 :le dioxyde de carbone

E. coli :Escherichia coli répétition deux

Fe^{2+} : ion ferreux

FeCl3 :chlorure de fer(III)

FRAP: Ferric reducing ability of plasma

g : Gramme

H :Hydrogene

K3Fe(CN)6 :hexacyanoferrate de potassium

Km: Kilomètre

km2. :kilomètre carré

MH : Mueller Hinton

Ml : Millilitre

N : Azote

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NH4+:L'ion ammonium

Nm : Nano mètre

no2-:dioxyde d'azote

O : Oxygene

P : Potassium

PH :Potentiel hydrogène

PO_4^{3-} :l'ion de phosphate

PR : Pouvoir Réducteur

S : Soufre

SO_4^{2-} :L'ion sulfate

Table des matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Tables des matières

INTRODUCTION GENERALE : .....ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE 4

CHAPITRE I : GENERALITE SUR LES MICRO ALGUES :..... 6

1) DEFINITION DES MICRO ALGUES ET DES CYANOBACTERIES : 6

2) LA DISTRIBUTION DES MICRO ALGUES :..... 6

3) LES FACTEURS INFLUENCENT LA DISTRIBUTION DES MICRO ALGUES :..... 6

3.1) FACTEUR ABIOTIQUES: 6

3.2) FACTEURS BIOLOGIQUES : 7

3) CLASSIFICATION DES MICRO ALGUES : 7

4) COMPOSITION ET NUTRITION DES MICRO ALGUES : 9

5) LES BESOINS DES MICRO-ALGUES EN ELEMENTS NUTRITIFS :..... 10

5.1) PHOTOAUTOTROPHIE :..... 10

5.2) HETEROTROPHIE : 11

5.3) MIXOTROPHIE :..... 11

5.4) ASSIMILATION DE L'AZOTE : 11

5.5) PHOSPHORE : 11

5.6) POTASSIUM ET MAGNESIUM :..... 12

5.7) OLIGO-ELEMENTS ET VITAMINES : 12

6) LA PHOTOSYNTHESE CHEZ LES MICRO ALGUES ET LES CYANOBACTERIES : 12

6.1) ORIGINE EVOLUTIVE DE LA PHOTOSYNTHESE : 12

6.2) APPARITION DES ORGANISMES OXYGENIQUES :..... 12

6.3) STRUCTURE CELLULAIRE DES CYANOBACTERIES :..... 13

6.4) MECANISME DE LA PHOTOSYNTHESE OXYGENIQUE : 13

6.5) LES PIGMENTS DE LA PHOTOSYNTHESE :..... 14

7) MODE DE REPRODUCTION DES MICRO ALGUES :..... 16

7.1) REPRODUCTION ASEXUEE :..... 16

7.2) REPRODUCTION SEXUEE : 17

8) LA CULTURE DES MICRO ALGUES ET DES CYANOBACTERIES :..... 17

8.1) AVANTAGES ET POTENTIEL PRODUCTIF : 18

8.2) CONTRAINTES TECHNIQUES ET ECONOMIQUES DE LA CULTURE DES MICRO ALGUES :..... 19

8.3) PERSPECTIVES ET GENIE GENETIQUE :..... 20

9) TECHNIQUES DE CULTURE ET CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES : 21

9.1) PHOTOBIOREACTEURS : TYPES ET FONCTIONNEMENT..... 22

9.2) CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES OPTIMALES :..... 22

9.3) UTILISATION DES EAUX USEES COMME MILIEU DE CULTURE : 22

9.4) CHOIX DES SOUCHES :..... 23

9.5) RECOLTE ET VALORISATION DE LA BIOMASSE :..... 23

CHAPITRE II : METABOLISME DES MICRO ALGUES :..... 25

1) LES MOLECULES D'INTERET PRODUITES PAR LES MICRO ALGUES :..... 25

1.1) PROTEINES 25

1.2) ACIDES GRAS ESSENTIELS :..... 25

1.3) PIGMENTS NATURELS :..... 25

1.4) VITAMINES ET MINERAUX :..... 25

1.5) POLYSACCHARIDES ET EXO POLYSACCHARIDES :..... 25

1.6) MOLECULES BIOACTIVES INNOVANTES : 25

1.7) LIPIDES POUR BIOCARBURANTS : 26

2) DOMAINE D'APPLICATION DES MICRO-ALGUES : 26

2.1) DOMAINE PHARMACEUTIQUE :..... 26

2.2) DOMAINE AGRICULTURE :..... 26

2.3) DOMAINE DES MICRO ALGUES EN AQUACULTURE :..... 27
2.4) DOMAINE COSMETIQUE : 27
2.5) DOMAINE ALIMENTAIRE : 28
2.6) DOMAINE ENERGETIQUE :..... 29
2.6.1) BIODIESEL : 29
2.6.2) BIOCARBURANT :..... 29
2.7) DOMAINE ENVIRONNEMENTAL : 30
2.7.1) TRAITEMENT DES EAUX USEES :..... 30
2.7. 2) REMEDIATION DU CO2 :..... 31
CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES..... 33
1) MATERIEL : 34
1.1) MATERIEL BIOLOGIQUE :..... 34
1.2) MATERIELS NON BIOLOGIQUE : 34
2) DESCRIPTION DE SITE :..... 35
2.1) PRESENTATION DE LA WILAYA DE TEBESSA :..... 36
2.1.1) LES ZONE D'ETUDE DANS LA WILAYA DE TEBESSA :..... 36
2.2) PRESENTATION DE LA WILAYA DE SOUK-AHRAS : 37
2.2.1) LA ZONE D'ETUDE DANS LA WILAYA DE SOUK-AHRAS: 38
2.3) PRESENTATION DE LA WILAYA D'EL-TARF : 38
2.3.1) LES ZONES D'ETUDE DANS LA WILAYA D'EL-TARF : 38
2.4) PRESENTATION DE LA WILAYA DE ANNABA :..... 39
2.4.1) LES ZONES D'ETUDE DANS LA WILAYA DE ANNABA : 40
3) PRESENTATION DE STATIONS DES PRELEVEMENTS DES ECHANTILLONS : 41
4) TRANSPORT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT L'ANALYSE : 43
5) METHODES :..... 44
5.1) OBSERVATION A L'ETAT FRAIS : 44
5.2) ISOLEMENT ET PURIFICATION DES SOUCHES :..... 44
5.2.1) METHODE DE DILUTION :..... 44
5.2.2) REPIQUAGE DES SOUCHES : 45
5.2.3) LA PURIFICATION ET LA CONSERVATION DES SOUCHES :..... 45

5.3) L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE : 46
5.3.1) LA PREPARATION : 46
5.3.2) LA REALISATION : 47
5.4) L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE 48
5.5) ESSAI DE FORMATION DES BOUES ACTIVEES :..... 49
CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION..... 51
1) OBSERVATION MICROSCOPIQUE A L'ETAT FRAIS :..... 51
DISCUSSION : 53
2) L'ISOLEMENT : 54
3) IDENTIFICATION MORPHOLOGIQUE DES SOUCHES ISOLEE : 56
4) L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE :..... 61
5) ACTIVITE ANTIOXYDANTE :..... 68
6) ESSAI DE FORMATION DES BOUES ACTIVEES ET TRAITEMENT DES EAUX USEES..... 69
CONCLUSION GENERALE .....ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 74
ANNEXE 83

Introduction générale

Les ressources naturelles ont toujours constitué un vivier inestimable pour la découverte de nouvelles molécules à haute valeur ajoutée. Parmi elles, les **cyanobactéries** et les **micro algues** occupent une place de plus en plus prépondérante dans la recherche scientifique et les applications biotechnologiques. Ces micro-organismes photosynthétiques, présents aussi bien dans les environnements aquatiques que terrestres, se distinguent par leur extraordinaire diversité génétique et métabolique, (Rastogi et *al*., 2015).

Depuis quelques décennies, l'intérêt pour ces microorganismes s'est intensifié, notamment dans les domaines de la **santé**, de la **cosmétique**, de la **nutrition**, et de **l'agriculture durable.** En effet, de nombreuses souches de cyanobactéries et de microalgues ont démontré des activités **antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires** ou encore **anti tumorales**, faisant d'elles des candidates prometteuses pour le développement de produits innovants (Singh et *al.*, 2011 ; Guedes et *al*., 2011).

L'**isolement** de ces organismes constitue une étape fondamentale permettant d'extraire des souches pures à partir d'échantillons naturels, en vue de leur culture et de leur caractérisation. Des méthodes telles que la **culture en milieu sélectif**, la **dilution en série** ou encore la **micromanipulation** sont couramment utilisées pour obtenir des cultures uni algales ou monoclonales (Andersen, 2005). Une fois isolées, ces souches font l'objet d'un **criblage bioactif** afin de détecter les activités biologiques potentielles de leurs extraits, à travers des tests *in vitro* ciblant divers types d'activités pharmacologiques ou agrochimiques (Bhowmick, et *al.*, 2020).

Les espèces de micro algues cultivées incluent notamment la cyanobactérie Arthrospira (spiruline), qui représenterait à elle seule environ 50 % de la production mondiale. Elle est suivie par plusieurs espèces de micro algues vertes telles que Chlorella, Dunaliella, Haematococcus, Nannochloropsis, ainsi que par la diatomée Odontella (Abed et *al.*, 2009).À l'échelle mondiale, le Japon concentre à lui seul près de 80 % de la production totale, estimée à 14,8 millions de tonnes d'algues récoltées. Environ 75 % de cette production est destinée à des usages alimentaires (Miyashita, 2006).

Dans ce cadre, ce travail est subdivisé en deux parties principales dans cette dynamique en explorant les différentes étapes allant de l'**isolement** des souches à leur **évaluation bioactive** plusieurs souches ont été obtenues, purifiées et caractérisées sur le plan morphologique et biochimique, dans le but de contribuer à la valorisation de ces microorganismes dans des applications d'intérêt.



Partie Bibliographique



Chapitre I :

Généralité sur les micro algues

Chapitre I : Généralité sur les micro algues :

1) Définition des micro algues et des cyanobactéries :

les micro-algues, également appelées microphytes, sont des organismes unicellulaires eucaryotes généralement présents dans les milieux aquatiques (Thoré et *al*., 2023), aussi bien en eaux salées que douces. Capables de réaliser la photosynthèse, elles se déclinent en diverses formes et tailles, généralement entre 3 et 10 micromètres.
Parmi les organismes souvent confondus avec elles figurent les cyanobactéries, également connues sous le nom d'algues bleu-vert. Bien qu'elles partagent certaines caractéristiques fonctionnelles avec les micro algues (Coêlho et *al*., 2019) , les cyanobactéries appartiennent au règne bactérien. Ce sont des procaryotes Gram-négatifs, anciens sur le plan phylogénétique, et présents dans une grande variété d'écosystèmes. Leur morphologie est également variée : elles peuvent être unicellulaires, filamenteuses ou coloniales.
En raison de leurs propriétés physiologiques, notamment leur capacité à effectuer la photo-fermentation, les microalgues jouent un rôle essentiel dans les écosystèmes aquatiques (Bernard, 2014).

2) la distribution des micro algues :

La diversité écologique des micro algues est remarquable, avec une estimation de 200 000 à 1 million d'espèces, ces micro organismes peuvent coloniser une grande variété d'habitats sur la planète. On les rencontre dans les océans, les eaux douces (les lacs et les rivières) les mers, ainsi que dans des environnements plus extrêmes comme les glaces polaires, les zones désertiques, et les sources d'eau chaude. Elles peuvent également être présentes dans des milieux acides ou Alcalins (Duran, et Isambert, 2011).

3) Les facteurs influencent la distribution des micro algues :

Chaque milieu favorise le développement de différentes espèces des micro algues alors que cette diversité est influencée par plusieurs facteurs :

3.1) Facteur abiotiques: Les facteurs abiotiques qui favorisent la croissance et l'adaptation des micro algues sont :

- Température : Essentielle pour leur développement car elle influence leur métabolisme et

leur capacité à réaliser la photosynthèse. Chaque type de micro algue a une température idéale pour son développement, habituellement située entre 20 et 30 °C, comme les espèces *Chlorella*, *Spiruline*, *Diatomées* et Cyanobactéries. Cependant, certaines d'entre elles Peuvent supporter des températures plus froides ou plus chaudes, telles que la micro algue *Celastrella* et *Dunaliella salina* (Vergon et *al.*, 2014).

- Lumière : Importante pour la photosynthèse et influence la composition des cellules (Lin & Guo, 2020).
- Salinité : Les variations de salinité peuvent induire un stress osmotique et ionique, influant sur la perméabilité des membranes et les proportions d'ions au sein des cellules. Chaque espèce possède une salinité idéale (Vergon et *al.*, 2014)
- Nutriments : Présence d'azote, de phosphate, de CO2 et différents métaux (Vergon et *al.*, 2014).

3.2) Facteurs biologiques : Les facteurs biologiques qui favorisent la croissance et l'adaptation des micro algues sont :

- Prédateurs et compétiteurs : Interactions avec d'autres êtres aquatiques (Vergon et *al.*, 2014).
- Environnement physique : Débit et profondeur de l'eau : Ils affectent la stabilité et l'accessibilité des ressources (Vergon et *al.*, 2014)
- Agents pathogènes : Les populations peuvent être touchées par des bactéries, des champignons et des virus (Vergon et *al.*, 2014).

3) classification des micro algues :

On en distingue deux grandes catégories de micro algue : les micro-algues procaryotes etles micro-algues eucaryotes Elles se divisent selon leurs caractéristiques morphologiques, biochimiques et génétiques (Guiry, 2012). (Personnelle) (tableau1)

Tableau 1 : Les groupes eucaryotes des micro algues (Cavalla,2000)

(DeReviers., 2003).

Les groupes	Pigment	Reserve énergétique	Paroi cellulaire	Habitat	Exemple

1. Chlorophytes (algues vertes)	chlorophylles a et b, caroténoïdes	amidon	Généralement composée de cellulose	majoritairement en eau douce, certaines en mer	*Chlorella*, *Dunaliella*, *Chlamydomonas*.
2. **Chrysophytes (algues dorées)**	chlorophylles a et c, fucoxanthine (donne une couleur dorée)	chrysolaminarine	silice ou parfois absence de paroi	principalement eau douce	
3. Diatomées (Bacillariophytes)	chlorophylles a et c, fucoxanthine.	lipides, chrysolaminarine	frustule en silice (deux valves)	eau douce et marine, très abondantes dans le phytoplancton	*Navicula*, *Thalassiosira*
4. **Dinofés (Dinophytes)**	chlorophylles a et c, péridinine	amidon.	plaques cellulosiques (thèque)	principalement marin, certains bioluminescents ou toxiques (marées rouges)	*Alexandrium*, *Gymnodinium*
5. **Euglenophytes**	chlorophylles a et b, caroténoïdes	paramylon (un glucide)	pas de paroi rigide, pellicule souple	eau douce principalement.	*Euglena*
6. **Cryptophytes**	chlorophylles a et c (comme les cyanobactéries).	amidon		eaux douces et marines	*Cryptomonas*

Chez les micro algues procaryotes, il n'existe qu'un seul groupe majeur reconnue les cyanobactéries (tableau 2) (Ross et Bridgeman, 2008).

Tableau 2 : Le groupe principale procaryote des micro algues (Garrity et *al.*,2001)

Le groupe	Procaryotes	Photosynthétique	Pigments	Morphologie	Milieux de vie	Exemples de genres connus
Cyanobactérie (Cyanophyta)	pas de noyau ni d'organites membraneux	utilisent la photosynthèse oxygénique comme les plantes (production d'oxygène)	chlorophylle a, phycobilines	formes unicellulaires, filamenteuse ou coloniales	eau douce, eau salée, sols, milieux extrêmes	Microcystis : peut produire des toxines Spirulina Nostoc : fixateurs d'azote.

4) Composition et nutrition des micro algues :

Les exigences nutritionnelles des micro algues sont similaires à celles des végétaux supérieurs (Becker, 1994).

Redfield (1934) a proposé une composition élémentaire C:N:P de 106:16:1. Cette composition est Relativement constante dans l'environnement naturel. Établi par Vonshak (1986), le milieu de culture devra satisfaire les besoins en éléments majeurs (ou macroéléments) C,H,N,O,P,S et en micro-éléments encore appelés oligo-éléments. Le tableau suivant (Tableau 3) montre des ordres de grandeur pour les éléments majeurs constitutifs des micro algues.

Tableau 3 : Eléments majeurs constitutifs des micro algues (Sialve et Steyer, 2013).

Elément	Composition cellulaire µg/mg de poids sec	Elément	Composition cellulaire µg/mg de poids sec
Carbone (C)	176-650	Magnésium Mg	0,5-75
Oxygène(O)	205-330	Fer Fe	0,2-34
Hydrogène (H)	29-100	Zinc Zn	0,005-1
Azote (N)	10-140	Manganèse Mn	0,02-0,24
Sodium (Na)	0,4-47	Silicium Si	0-230

Potassium (K)	1-75	Bore B	0,001-0,25
Phosphore (P)	0-80	Molybdène Mo	0,0002-0,001
Soufre (S)	1,6-16	Cuivre Cu	0,006-0,3
		Cobalt Co	0,0001-0,2

Le fractionnement biochimique est structuré autour de quatre catégories de molécules : les protéines, les lipides, les glucides et les acides nucléiques (Tableau 4). La composition diffère en fonction des espèces et des conditions de culture.

Tableau 4: Répartition du fractionnement biochimique d'une cellule de micro algue (Sialve et Steyer, 2013)

Compartiment biochimique	**Fonction principale**	**Proportion massique (%)**
Protéines	Structure et métabolisme	40-60
Lipides	Structure et réserve énergétique	40-60
Sucres	Structure et réserve énergétique	8-30
Acides nucléiques	Support, vecteur et régulateur de l'information génétique	5-10

5) Les besoins des micro-algues en éléments nutritifs :

Le principal composant des micro-algues est le carbone (Van den Hende et *al.*, 2012). Ces organismes peuvent utiliser différents types de métabolismes selon les sources de carbone disponibles :

5.1) Photoautotrophie :

Les micro-algues photoautotrophes s'utilisent de carbone inorganique, introduit sous forme de CO_2 ou de carbonate (HCO_3^-), pour réaliser la photosynthèse. Un apport supplémentaire de CO_2 permet d'augmenter la productivité, car la croissance n'est alors plus limitée par le carbone. Les produits gazeux industriels provenant de la

combustion peuvent représenter une source intéressante de carbone inorganique. Bumbak et *al*., 2011; Becker, 1994)

5.2) Hétérotrophie :

Certaines espèces peuvent assimiler du carbone organique produit par d'autres organismes. Toutefois, ce mode est moins efficace énergétiquement, et entraîne des taux de croissance plus faibles. Des sous-produits industriels**,** comme les mélasses ou les effluents des industries sucrières et laitières, ont néanmoins été utilisés avec succès (Bumbak et *al*., 2011).

5.3) Mixotrophie :

La mixotrophie combine les deux stratégies précédentes : assimilation de carbone inorganique et organique à la fois. Cela favorise une croissance plus flexible et peut être avantageux pour **la** production de biomasse et de composés à haute valeur ajoutée (Sialve et Steyer, 2013).

5.4) Assimilation de l'azote :

L'azote, représentant 7 à 10 % de la biomasse, est un élément essentiel assimilé sous forme d'ammonium, nitrate, nitrites ou urée. Certaines cyanobactéries ont la capacité d'assimiler directement l'azote atmosphérique. Le contrôle des apports azotés constitue un levier clé pour réguler la synthèse et le stockage des composés de réserve dans la cellule (Sialve et Steyer, 2013).

- Autres éléments nutritifs majeurs :

5.5) Phosphore :

Le phosphore est crucial pour le transfert d'énergie, la synthèse des acides nucléiques et la formation des membranes cellulaires. Il peut devenir un facteur limitant dans le milieu de culture en formant des complexes avec les cations métalliques. Le ratio N/P est souvent utilisé pour contrôler l'équilibre écologique entre eucaryotes et procaryotes. (Bulgakov et Levich, 1999)

5.6) potassium et Magnésium :

- Le potassium agit comme cofacteur enzymatique et régule l'équilibre des charges membranaires.
- Le magnésium est indispensable à la photosynthèse (Pelmont, 2008)

5.7) oligo-éléments et vitamines :

Des éléments traces comme le fer, le cobalt et le cuivre sont impliqués dans l'appareil enzymatique des cellules. De plus, des vitamines telles que la cobalamine (B12), la thiamine (B1) et la biotine (B7) sont indispensables à certaines espèces. Ces besoins peuvent être comblés par des bactéries hétérotrophes qui les sécrètent dans le milieu (Croft et *al*. 2006).

6) la photosynthèse chez les micro algues et les cyanobactéries :

La photosynthèse est un mécanisme spécifique de transformation de l'énergie solaire au cours de laquelle les composés inorganiques et la lumière sont transformés en matière organique par des organismes photoautotrophes. Presque toutes les espèces vivantes sur la planète s'appuient directement ou indirectement sur la photosynthèse pour fournir de la matière organique et de l'énergie nécessaires à leur métabolisme et leur croissance expansion (Masojídek et *al*., 2013).

6.1) Origine évolutive de la photosynthèse :

Les bactéries photosynthétiques anoxygènes, qui sont les premiers organismes photoautotrophes, ont évolué il y a approximativement 3 milliards d'années. Ces bactéries utilisent l'énergie de la lumière afin d'extraire les protons et électrons provenant de diverses sources, comme Fe^{2+} ou H_2S, et pour transformer le CO_2 en molécules organiques (Masojídek et *al*., 2013).

6.2) Apparition des organismes oxygéniques :

Dans cet élément, nous mettons l'accent sur la photosynthèse oxygénique, les micro-organismes – les cyanobactéries procaryotes et les algues eucaryotes. Ces organismes microscopiques sont apparus ultérieurement, approximativement il y a 2 milliards

d'années, et ont façonné notre atmosphère riche en oxygène sur Terre (Masojídek et *al*., 2013).

6.3) Structure cellulaire des cyanobactéries :

Les cyanobactéries (également appelées algues bleu-vert) sont généralement unicellulaires, bien que certaines espèces aient tendance à former des filaments ou des agrégats. La structure interne d'une cellule de cyanobactérie (figure 1) est procaryote, comprenant une zone centrale (nucléoplasme) abondant en ADN et une région périphérique (chromoplast) qui renferme des membranes de photosynthèse. Ces membranes photosynthétiques ont généralement leurs feuilles disposées en parallèle, près de la surface cellulaire (Morya et *al*., 2023).

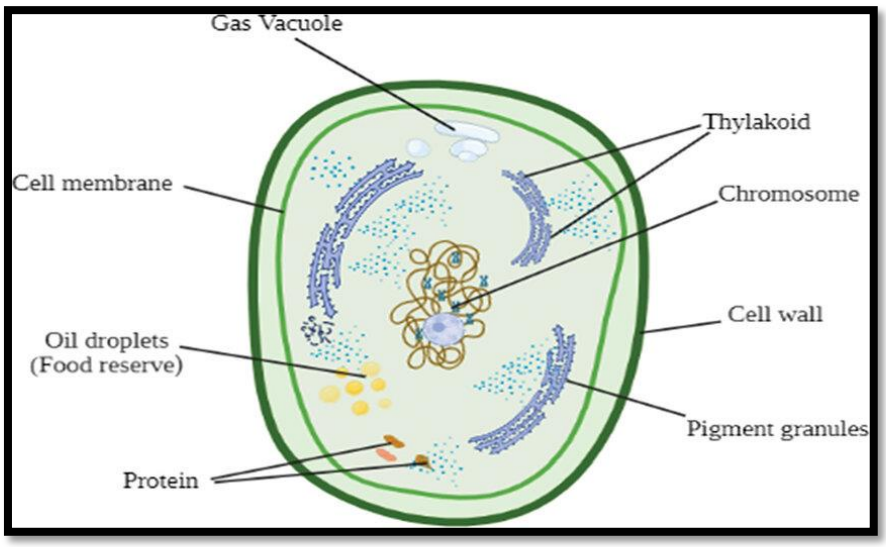


Figure 1: structure cellulaire des cyanobactéries (Morya et *al*., 2023)

6.4) Mécanisme de la photosynthèse oxygénique :

On divise traditionnellement les micro-organismes eucaryotes autotrophes en fonction de leur mécanisme d'absorption de lumière pour la photosynthèse. La photosynthèse oxygénique peut être décrite comme une réaction induite par l'énergie lumineuse (captée par les molécules de chlorophylle), où le dioxyde de carbone et l'eau se transforment en glucides et en oxygène. Ce processus est généralement segmenté en deux phases : les réactions lumineuses et les réactions sombres (figure 2). Dans les réactions de lumière, associées aux membranes photosynthétiques, l'énergie

lumineuse est transformée en énergie chimique – produisant une biochimie réductrice $NADPH_2$ et un composé énergétique fort ATP. Au sein du stroma, lors de réactions obscures, le $NADPH_2$ et l'ATP sont employés dans la conversion biochimique progressive du dioxyde de carbone en glucides (Masojídek et *al.*, 2013).

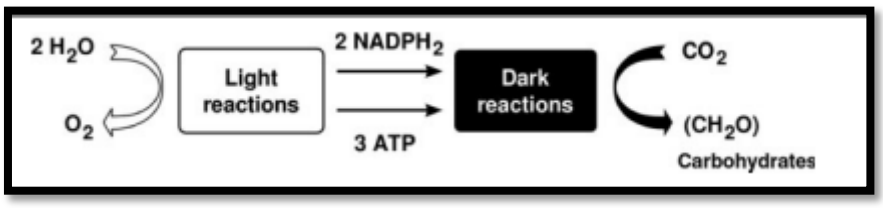


Figure 2 : Principaux produits des réactions lumineuses et obscures de la photosynthèse(Masojídek et *al.*, 2013)

6.5) les pigments de la photosynthèse :

Tous les organismes qui effectuent la photosynthèse possèdent des pigments organiques pour capter l'énergie lumineuse. On distingue trois principales catégories de Pigments : chlorophylles, caroténoïdes et phycobilines.
Les molécules de chlorophylle (Chl) sont composées d'un anneau tétrapyrrolique (chromophore, tête polaire) qui abrite un atome central de magnésium et un alcool terpénoïde à longue chaîne (sauf pour la Chl c) (figure 3.a). Ces molécules sont associées de manière non covalente aux apoprotéines. De manière structurale, les diverses formes de molécules de chlorophylle, soit a, b, c et d, se distinguent par leur Substituants de groupe latéral sur l'anneau tétrapyrrole. Toutes les chlorophylles présentent deux principales bandes d'absorption : le bleu ou bleu-vert (450 à 475 nm) et le rouge (630 à 675 nm), ce qui leur confère leur teinte verte distincte. Le chla se retrouve dans tous les organismes photoautotrophes comme élément du noyau et du complexe réactionnel pigment-protéine, et dans les structures de collecte de lumière, il est souvent associé au Chl b ou au Chl c. L'accessoire prétendu (antenne) des pigments Chl b, c et d couvre la plage d'absorption lumineuse.
Les caroténoïdes représentent un grand groupe de chromophores biologiques dont la zone d'absorption s'étend de 400 à 550 nm, ce qui leur confère une teinte jaune-orange

La structure des caroténoïdes est composée de deux hexagones de carbone reliés par une liaison double conjuguée à une chaîne de 18 atomes de carbone. Ils sont généralement soit des hydrocarbures (par exemple, le α-carotène, le β-carotène) ou des hydrocarbures oxygénés (comme les xanthophylles, par exemple, la lutéine, la

violaxanthine, la zéaxanthine, la fucoxanthine et la péridinine) (figure 3.c et 2.d). Ils jouent plusieurs rôles dans le système photosynthétique en agissant comme : (i) des pigments accessoires qui captent la lumière et transmettent l'énergie à Chl a ; et (ii) des éléments structurels au sein du les complexes pigment-protéine impliqués dans la collecte et le centre de réaction ; ainsi que (iii) les molécules indispensables pour se protéger contre une irradiation excessive, les triplets de chlorophylle et les espèces réactives à l'oxygène (Masojídek et *al*., 2013).

Chez les cyanobactéries et les algues rouges, les principales antennes renferment des phycobilines (phycoerythrobilin, phycourobilin), qui sont des tétrapyrroles linéaires ; elles ne sont donc pas liées à un atome de magnésium. Ces pigments accessoires captent la lumière de couleur bleu-vert, verte, jaune ou orange (500 à 650 nm).

Les chloro-protéines, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines sont solubles dans l'eau et leurs pigments sont covalemment associés à des apoprotéines (figure 3. b).

Il y a des pigments dans les algues qui ne transmettent pas l'énergie d'excitation. Par exemple, un groupe connu sous le nom de caroténoïdes secondaires, Certaines espèces d'algues (par exemple, les xanthophylles de teinte rouge orangée, l'astaxanthine et la canthaxanthine) présentent une surproduction de ces pigments. Lorsqu'il est cultivé dans des conditions défavorables (comme une carence en nutriments, des températures extrêmes et une forte irradiance), *Haematococcus*. Ces pigments existent dans le cytoplasme et leur fonction métabolique n'est pas totalement définie.

Pour mesurer les chlorophylles et les caroténoïdes, les pigments sont obtenus en utilisant des solvants organiques (comme le méthanol, l'éthanol ou l'acétone). L'absorbance de l'extrait est ensuite déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre, et la concentration en pigments est calculée avec des équations mathématiques. Dissociation et évaluation des données individuelles.
On peut obtenir des caroténoïdes en se servant de la chromatographie en phase liquide dotée d'un détecteur à absorption ou à fluorescence (Masojídek et *al*., 2013).

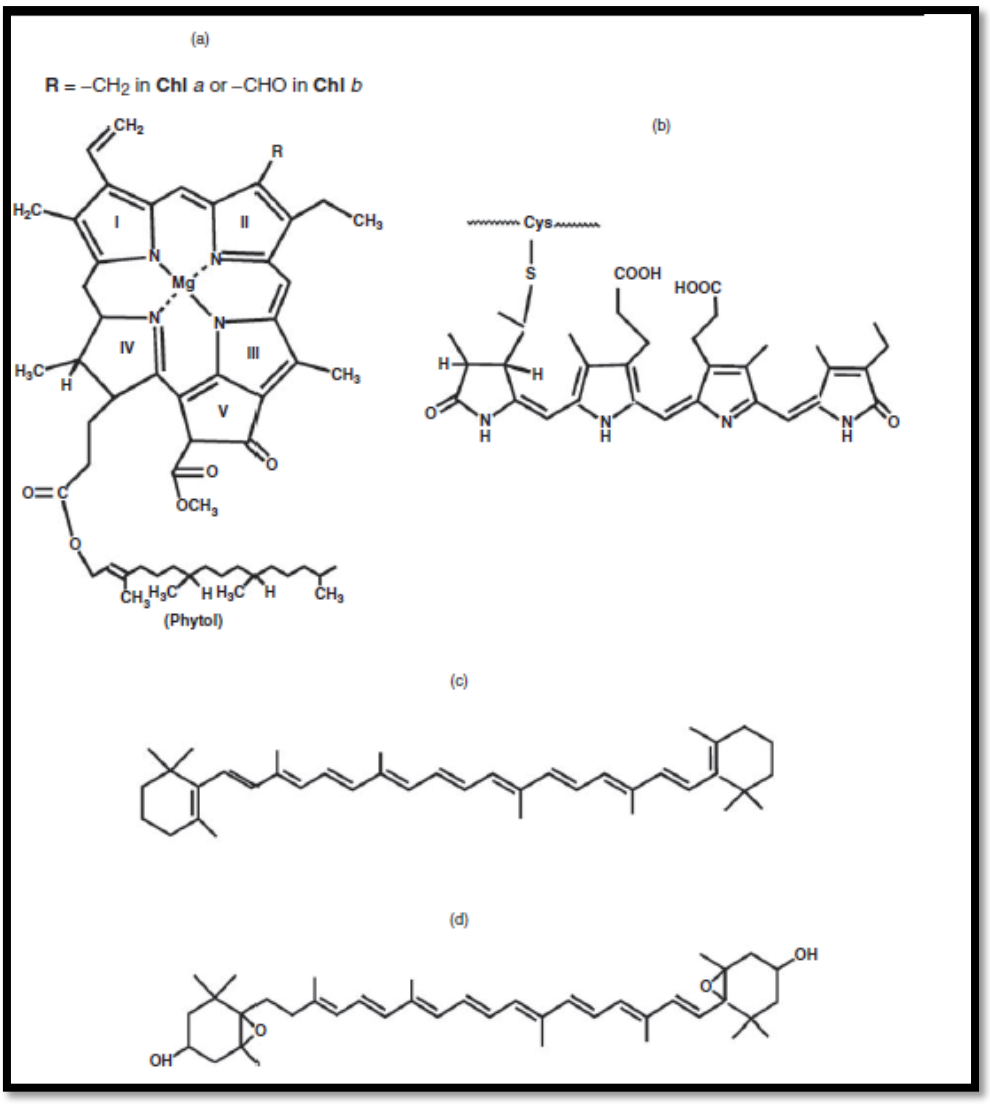


Figure 3 : Structures des trois principaux groupes de pigments dans les algues et les cyanobactéries – chlorophylles(a), phycocyanobilin (b) et caroténoïdes [β-carotène (c) et violaxanthine (d)] (Masojídek et *al.*, 2013)

7) mode de reproduction des micro algues :

La reproduction des micro algues se déroule selon deux modes :

7.1) Reproduction asexuée :

Celle-ci peut être de 3 sortes :

- Fragmentation : le thalle se divise en deux parties qui reproduiront chacune un nouveau thalle.

- Sporulation : des spores peuvent être produites dans les cellules végétatives communes ou dans des structures spécialisées nommées sporanges.
- Scission binaire : division du noyau puis du cytoplasme (Cavalla, 2000).

7.2) Reproduction sexuée :

Dans la reproduction sexuée, il y a fusion de gamètes mâle et femelle afin de produire un zygote diploïde. Des ovules se forment dans les cellules réceptrices identiques aux cellules somatiques ou dans des cellules végétatives femelles légèrement modifiées appelées oogones (Fucus).

Les spermatozoïdes sont produits dans des structures mâles spécialisées nommées anthéridies (Cavalla ,2000).

8) la culture des micro algues et des cyanobactéries :

Historiquement, les micro algues et les cyanobactéries ont rarement été utilisées par l'homme. Seule la cyanobactérie *Arthrospira platensis* (communément appelée spiruline) a été traditionnellement consommée, et uniquement par les Aztèques au centre du Mexique et les Kanembu au Tchad. La culture de micro algues a débuté en 1890 lorsque l'algue verte *Chlorella* a été isolée par des chercheurs néerlandais et maintenue en culture pure en laboratoire. La culture à des fins commerciales a commencé dans les années 1970 avec la production d'*Arthrospira* et de *Chlorella* (Pulz & Gross, 2004) .Aujourd'hui, la plupart des micro algues sont cultivées dans des étangs peu profonds, que l'on appelle aussi des étangs de voie (figure 4.A). Ces étangs sont des bassins peu profonds en forme de U dans lesquels l'eau est doucement mélangée et recirculée à l'aide d'une roue à aubes motorisée. Ces systèmes produisent environ 30 tonnes de biomasse sèche par hectare et par an. Cependant, la photosynthèse dans les étangs de voie est limitée en raison de l'auto-ombrage des cellules en suspension. Les photobioréacteurs prétendument plus productifs peuvent être plus que doublés (figure 4.B). Il s'agit de réacteurs clos et transparents conçus pour optimiser la pénétration de la lumière dans la culture et faciliter la photosynthèse en réduisant l'auto-ombrage. Ils peuvent varier en forme, allant de panneaux fluides à des réseaux tubulaires verticaux ou horizontaux. De plus, il y a de nombreuses micro algues capables de croissance mixotrophique, ce qui implique qu'elles peuvent se

développer en utilisant une combinaison de sources de carbone organique légères et simples (par exemple, glucose, acide acétique). Comme source d'énergie. Certaines micro algues ont perdu leur capacité à produire de la lumière et se développent de manière totalement hétérotrophe. La méthode de production des micro algues hétérotrophes est extrêmement différente de celle des espèces auto- ou mixotrophes. Elle ressemble à la fermentation classique (figure 4.C) (Thoré et *al*., 2023).

8.1) Avantages et potentiel productif :

Étant donné que les micro algues ont un taux de croissance exponentiel élevé, elles atteignent des productivités de biomasse supérieures par rapport aux cultures terrestres. De plus, les cultures terrestres produisent une biomasse qui ne peut être utilisée que partiellement (p. ex., la valeur économique des semences et des tubercules riches en glucides) et qui possède une teneur élevée en fibres (principalement cellulose et lignine), alors que la biomasse de micro algues peut presque entièrement être exploitée, parce qu'elle a une très faible teneur en fibres et est riche en protéines, lipides et/ou glucides facilement accessibles comme l'amidon. Comparativement au soja, la composition de biomasse des micro algues est à peu près semblable, mais elles peuvent générer 10 protéines de plus par hectare que le soja. Les micro algues pourraient ainsi fournir beaucoup plus de protéines sur la même superficie que les cultures traditionnelles. De surcroît, la culture des micro algues ne dépend pas de sols fertiles et peut être pratiquée sur des terres impropres à l'agriculture. Les souches de micro algues dans l'eau de mer ne dépendent pas forcément de nos ressources limitées en eau douce. En outre, même si les cultures agricoles modernes perdent généralement plus de la moitié de l'azote qu'elles utilisent dans l'environnement en raison de leur inefficacité à absorber les nutriments, les pertes d'azote issues des systèmes de culture de micro algues sont minimes. L'alliance d'une productivité élevée et d'une composition de biomasse attrayante a initialement suscité l'intérêt pour la production en masse de micro algues. Pendant la Seconde Guerre mondiale, le manque d'accès au pétrole a incité des chercheurs en Allemagne à évaluer le potentiel de production d'huile à partir de micro algues riches en lipides. Dans la décennie qui a suivi la Seconde Guerre mondiale, l'utilisation de la *chlorella* a été étudiée comme source de protéines pour la population mondiale en rapide expansion. En réponse à la crise pétrolière de 1970, les États-Unis ont mis en place un programme de recherche

novateur visant à étudier comment les micro algues peuvent être cultivées pour produire des biocarburants (Borowitzka, 2013) **.**

8.2) Contraintes techniques et économiques de la culture des micro algues :

En dépit de cet intérêt répété pour la production à grande échelle de micro algues destinées aux biocarburants ou aux protéines en vrac, les micro algues ne sont toujours pas en mesure de concurrencer les cultures agricoles. Plusieurs raisons expliquent le coût élevé de la production des micro algues par rapport aux cultures conventionnelles. Tout d'abord, les systèmes de culture tels que les étangs à canaux coûtent plus cher par unité de superficie que les terres arables conventionnelles. Les photobioréacteurs fermés sont encore plus coûteux, en particulier lorsqu'un chauffage ou un refroidissement supplémentaire est nécessaire pour atteindre des conditions de croissance optimales. Deuxièmement, la récolte et le traitement en aval de la biomasse microalgale (figure 4.D) sont plus gourmands en énergie que les cultures conventionnelles. La biomasse des micro algues est généralement constituée de petites cellules qui forment des suspensions relativement diluées (0,5 à 5 g de matière sèche par litre). La récolte implique donc le traitement de grands volumes de bouillon de culture. Les fabricants de micro algues à vendre ont l'habitude d'utiliser des centrifugeuses industrielles, mais elles sont à la fois énergivores et coûteuses. Des approches à faible coût telles que la filtration membranaire, l'occultation par le fluor ou la filtration de l'air dissous sont en cours d'étude, mais elles ne sont pas encore éprouvées à grande échelle. Ensuite, comme les micro algues récoltées fraîchement sont des produits humides, il est nécessaire de les sécher pour optimiser leur durée de conservation (par exemple, en les lyophilisant ou en les séchant par pulvérisation), ce qui représente également un processus énergivore. De plus, les cellules de nombreuses micro algues sont entourées d'une paroi cellulaire résistante qui doit être perturbée afin d'extraire des protéines ou des lipides. Cela peut être réalisé par homogénéisation à haute pression, ultrason cation ou broyage de billes mais nécessite beaucoup d'énergie. Enfin, comme pour l'agriculture terrestre, la culture des micro algues peut subir de grandes pertes de productivité en raison des parasites qui contaminent la culture. Il s'agit notamment des protozoaires ou des petits métazoaires (p. ex., rotifères et micro crustacés) qui se nourrissent de micro algues ou les parasitent, ou encore des micro algues indésirables qui envahissent la culture et la

prennentencharge.

Ces ravageurs peuvent provoquer d'importantes pertes car ils ont souvent des taux de croissance élevés et peuvent entraîner l'écroulement de la culture de micro algues en quelques jours. Actuellement, on connaît très peu de choses sur ces espèces nuisibles et les études sur la prévention et la maîtrise de la contamination en sont encore à leurs débuts. Le risque de contamination est moins important dans les photobioréacteurs clos que dans les cultures en bassin ouvert, mais même là il ne peut être totalement évité. La diminution du coût de production des micro algues nécessitera une optimisation de tout le processus de production (Thoré et *al*., 2023).

8.3) Perspectives et génie génétique :

Le génie génétique peut jouer un rôle important à cet égard. Plus précisément, il peut aider à accroître la productivité de la biomasse en améliorant l'efficacité photosynthétique ou à améliorer le rendement des bioproduits spécifiques en augmentant leur concentration dans la biomasse. Il pourrait même être envisageable de faciliter la récolte en créant des micro algues auto-occultantes, et de simplifier l'extraction des produits en modifiant la composition de la paroi cellulaire. Le génie génétique peut aussi contribuer à développer des souches résistantes à certains ravageurs. À ce titre, un défi du génie génétique des micro algues est que ces espèces appartiennent souvent à des lignées évolutives très différentes, et chaque lignée nécessite l'optimisation de boîtes à outils génétiques pour manipuler le génome.

Les microalgues génétiquement modifiées rencontrent aussi des obstacles réglementaires significatifs (Thoré et *al*., 2023).

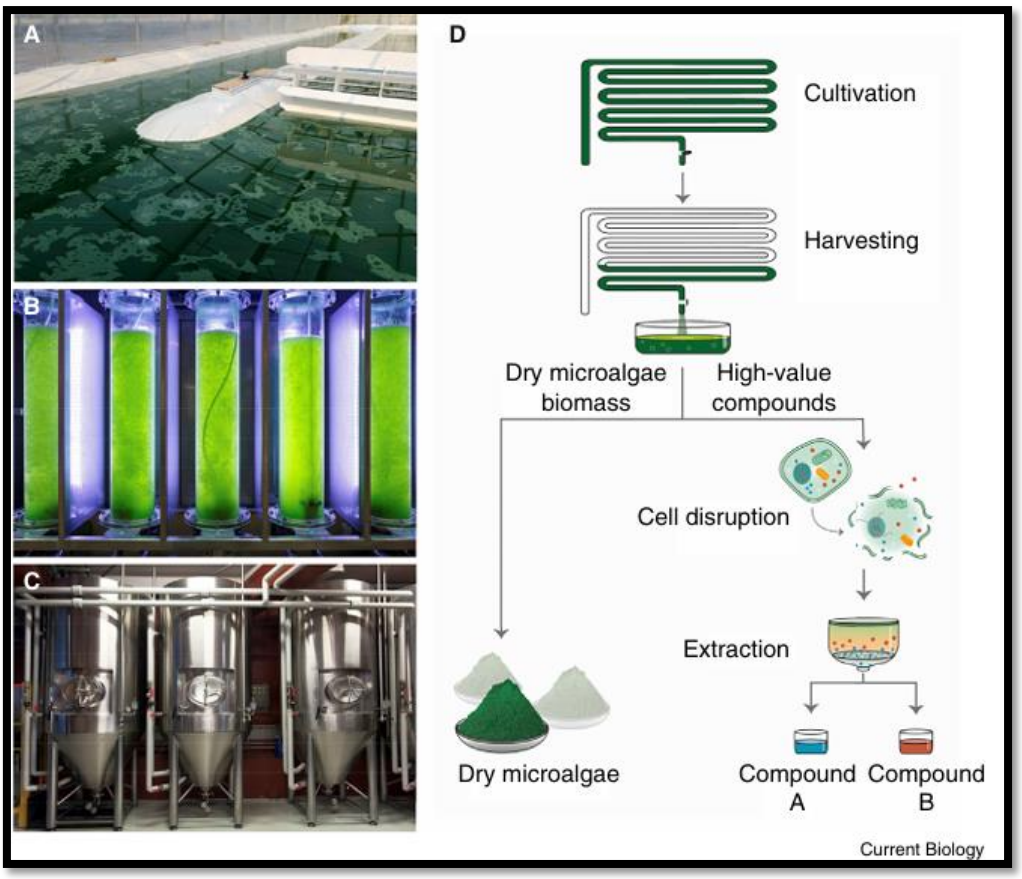


Figure 4 : Culture et transformation des micro algues. des étangs ouverts (A) photo bioréacteurs fermés (B) des fermenteurs (C) (D) La fabrication de produits à base de micro algues commence par des micro algues pour la production de biomasse (Thoré et *al*., 2023)

9) Techniques de culture et conditions environnementales :

La culture des micro algues présente un intérêt croissant en raison de ses nombreuses applications dans les domaines du textile, de l'élevage, des engrais biologiques, de la pharmacie et des énergies renouvelables, notamment les biocarburants (bioéthanol, biogaz, biodiesel). Toutefois, la production à grande échelle reste coûteuse et peu compétitive face aux énergies fossiles, ce qui exige l'optimisation de plusieurs paramètres techniques et environnementaux. (Mahlangu et *al*., 2024).

9.1) Photobioréacteurs : types et fonctionnement

Les photobioréacteurs sont des systèmes clos permettant la culture des microalgues en contrôlant précisément des facteurs tels que la lumière, la température, le pH et les nutriments. On distingue principalement :

- Les photobioréacteurs **aérobies**, qui assurent un apport continu en oxygène, favorisant la croissance de micro-organismes oxygénodépendants.
- Les photobioréacteurs **anaérobies**, qui opèrent sans oxygène, permettant la culture de souches anaérobies spécifiques.

Ces réacteurs existent en plusieurs configurations : tubulaires, à panneau plat ou à colonne de bulles, chacune adaptée à des usages et des souches particulières. Leur choix dépend des objectifs de production et des conditions biologiques recherchées. (Mahlangu et *al*., 2024).

9.2) Conditions environnementales optimales :

La croissance des micro algues est influencée par plusieurs facteurs environnementaux essentiels :

- Lumière **:** nécessaire à la photosynthèse. L'intensité lumineuse idéale varie entre 1850 et 14800 lux selon les espèces. (Chauhan et Mohanty 2023).
- Température **:** la plupart des microalgues se développent entre 15 °C et 35 °C. (Chisti, 2016).
- pH : optimal entre 7,0 et 9,0 pour la majorité des espèces. (Meng et *al*., 2021)
- Nutriments : azote, phosphore et oligoéléments, fournis par les engrais, les eaux usées ou le ruissellement agricole. (Song et *al.*, 2022).

9.3) Utilisation des eaux usées comme milieu de culture :

Les eaux usées représentent une ressource économique et riche en nutriments pour la culture des micro algues. Elles permettent une production rentable de biomasse tout en s'intégrant aux infrastructures de traitement des eaux résiduaires. Toutefois, des

problèmes tels que les mauvaises odeurs et l'accumulation des algues sur les parois peuvent réduire l'efficacité de la photosynthèse (Song et *al.*, 2022).

9.4) Choix des souches :

La sélection des souches est cruciale. Elle repose sur leur productivité, leurs besoins nutritifs et leur tolérance aux conditions environnementales. Par exemple :

- ***Chlorella vulgaris*** et ***Spirulina platensis*** : haute productivité de biomasse, riches en nutriments.
- ***Nannochloropsis sp.*** *et* ***Scenedesmus sp.*** : riches en lipides, utiles pour les biocarburants. (Song et *al.*, 2022).

9.5) Récolte et valorisation de la biomasse :

Après culture, la biomasse est récoltée par des techniques telles que la centrifugation, la floculation ou la filtration. Elle peut ensuite être transformée par pyrolyse, carbonisation hydrothermale ou torréfaction pour produire du biocharbon.

L'optimisation des techniques de culture et des conditions environnementales est essentielle pour améliorer la rentabilité et la durabilité de la production de micro algues. Les recherches futures doivent se concentrer sur l'amélioration de l'efficacité des systèmes de culture, la réduction des coûts, et l'intégration avec des processus de valorisation des déchets. (Song et *al.*, 2022).

Chapitre II :

Métabolisme des micro-algues

Chapitre II : métabolisme des micro algues :

1) Les molécules d'intérêt produites par les Micro algues :

Les micros algues produisent une vaste gamme de molécules intéressantes aux applications diverses dans les domaines nutritionnel, pharmaceutique, cosmétique, énergétique et environnemental.

Les Principaux molécules d'intérêt produites par les micros algues sont :

1.1) Protéines : riches en acides aminés indispensables, certaines micro algues comme la spiruline et la *chlorella* sont employées comme compléments alimentaires protéiques (Barsanti et Gualtieri, 2014).

1.2) Acides gras essentiels : elles synthétisent des lipides essentiels, notamment des acides gras polyinsaturés comme les oméga-3 (acide alpha- linolénique, ALA) et oméga-6 (acide linoléique, LA), qui sont importants pour la santé humaine (Sialve et Steyer, 2013).

1.3) Pigments naturels : les micros algues produisent des pigments bioactifs tels que l'astaxanthine, la phycocyanine, le bêta-carotène, les caroténoïdes, les chlorophylles, (Falkowski et Raven, 2013). Qui ont des propriétés anti oxydantes, anti-inflammatoires et sont utilisés en cosmétique et en nutraceutique (Arumugam et *al*., 2013).

1.4) Vitamines et minéraux : elles contiennent des vitamines (ex. vitamine E, vitamine B12) et des minéraux/oligoéléments (calcium, fer, zinc, magnésium, manganèse, chrome), contribuant à leur valeur nutritionnelle élevée (Prathima et *al*., 2013).

1.5) Polysaccharides et exo polysaccharides : ces molécules ont des propriétés immunostimulantes et sont utilisées dans les industries pharmaceutique et cosmétique (Zehlila, 2017).

1.6) Molécules bioactives innovantes : les micros algues sont exploitées pour produire des protéines recombinantes, enzymes, anticorps monoclonaux,

immunotoxines à usage thérapeutique, grâce à leur capacité à exprimer des protéines complexes via leur génome nucléaire ou chloroplastique (Spolaore et *al.*, 2006).

1.7) Lipides pour biocarburants : certaines espèces accumulent jusqu'à 70% de leur masse en lipides, ce qui en fait des candidats prometteurs pour la production de biocarburants de troisième génération à faible impact environnemental (Ville et Champ, 2014).

2) domaine d'application des micro-algues :

les micro algues sont hautement prometteuses pour des nombreuses application dans des domaines variés tels que : l'industrie pharmaceutique, l'environnement, l'aquaculture, l'agriculture, la cosmétique, l'alimentation.

2.1) Domaine pharmaceutique :

Les micro-algues constituent une source importante de molécules bioactives et de toxines employables dans le développement de nouveaux médicaments pour le traitement principalement des maladies cancéreuses (Pulz O et *al*, 2004).

Les polysaccharides issus des micro algues trouvent dans le domaine médical (activités antioxydantes, antivirales, anti-tumorales et anticoagulantes) et d autre Plusieurs molécules sont tirées chez des Cyanobactéries "*Spirulina platensis*" (Mayer et Hamann, 2004).

Les micro-algues fabriquent une vaste série de vitamines. parmi ces vitamines les vitamines B12 et E plus que le bêta-carotène secréter par les micro algues, est un précurseur de la vitamine a très importante, à tout âge, spécialement pour la santé des cellules et la vision (Ghobrini et *al*., 2014).

2.2) Domaine agriculture :

La biomasse algale est reconnue pour enrichir la composition minérale des sols et leur capacité de rétention d'eau (Reviers, 2002).

Les cyanobactéries grâce à leur aptitude à fixer l'azote atmosphérique qui aident à préserver la fertilité des écosystèmes naturels ou cultivés. Leur présence dans les

rizières améliore la qualité des récoltes. Cependant, c'est une technique qui n'a pas été largement employée par les agriculteurs mais qui mérite d'être réévaluée et perfectionnée plus que *Chlorella vulgaris*, est employée pour encourager la biosynthèse de chlorophylle, cela améliorant le développement des plantes (Richmond, 2004).

2.3) Domaine des micro algues en aquaculture :

Selon Ghobrinietal (2014), il est possible d'incorporer les micro algues dans l'alimentation destinée à l'aquaculture marine. Elles revêtent une importance cruciale dans les processus d'écloserie et de nurserie pour les mollusques bivalves, les crevettes et certains élevages de poissons. On utilise aussi les micro algues pour la production de zooplancton, souvent des rotifères, qui servent d'alimentation aux poissons carnivores nouvellement nés (figure 5) (PERSON, 2010).

Comme le soulignent Ghobrini et *al*. (2014), elles sont aussi considérées comme d'excellents fertilisants pour les sols pauvres, car elles fournissent notamment du potassium, de l'azote et des éléments indispensables à la croissance des plantes.



Figure 5 : Nourriture pour poisson (HBH)(NREL,2012).

2.4) Domaine cosmétique :

Dans l'industrie cosmétique, diverses espèces de micro algues sont mises à profit, principalement les deux espèces *Arthrospira* et *Chlorella* (Stolz et Obermayer, 2005). Des algues, notamment les pigments, acides aminés essentiels, antioxydants et polyphénols, sont intégrées dans des compositions cosmétiques pour leurs propriétés épaississantes, régénératrices et antioxydantes.

On retrouve des extraits *d'Arthrospira sp*. et de *Chlorella sp.* dans diverses formules de soins cutanés, notamment les crèmes anti-âge, les lotions pour le visage et le corps, ainsi que les produits rafraîchissants ou régénérants (Jesus Raposo et *al*., 2013). Mobin et Allam (2017) notent également la présence de ces extraits dans les produits pourcheveux.

La production de protéines à partir de la souche *Arthrospira* favorise la réparation des premiers signes du vieillissement cutané, tandis que les extraits de *Chlorella vulgaris* stimulent la synthèse du collagène dans la peau, provoquant une diminution des rides (Spolaore et *al*., 2006). Les pigments dérivés des micro algues sont aussi employés dans le secteur cosmétique (Del Campo et *al.*, 2000).

2.5) Domaine alimentaire :

Ces microorganismes Grâce à leur bonne valeur nutritive sont employés dans l'alimentation animale et humaine alors que La biomasse peut

être manufacturée sous diverses formes telles que tablettes, poudre, capsules, pastilles (Pulz et *al*., 2004).

Actuellement, la plus connue dans ce domaine est une micro algue appelée *Arthrospira platensis*, ou Spiruline (Becerra–Celis, 2009).

C'est dans une situation de disette alimentaire en 1940 que les scientifiques se sont penchés sur les micro algues comme aliments, en raison de leur teneur en protéines. La première usine industrielle a vu le jour dans les années 1960 au Japon et, dès les années 1980, l'Asie produit une vingtaine de tonnes annuellement, principalement du genre *Chlorella*. (figure 6) (Jenck *et al.*, 2011).



Figure 6 : Formes nutritives des microalgues Anonyme., 2011).A:LaChlorelle (*Chlorella vulgaris*). B : La Spiruline (*Arthrospira Platensis*)

Les protéines sont d'une importance majeure dans la nutrition humaine. Certaines espèces algales contiennent jusqu'à 60 % de protéines. La cyanobactérie *Arthrospira* est une algue célèbre, aujourd'hui cultivée pour sa forte teneur en protéines (Person, 2010).

2.6) Domaine énergétique :

Le concept algal baser sur le principe de capter et de concentrer des formes renouvelables diffuses et irrégulières d'énergie comme le rayonnement solaire ou l'énergie chimique de certains rejets en les convertissant en biomasse algale, une forme stable et concentrée d'énergie. Il est faisable d'extraire des biocarburants, une forme concentrée, stable et polyvalente d'énergie (Ghobrini et *al*., 2014).

2.6.1) Biodiesel :

Les micro algues sont intéressantes pour la production de biodiesel, 500 à 1000 fois plus performantes que les espèces terrestres notamment *Chlorella sp* (Doré, 2009).

Certaines micro-algues sont capables de produire une grande quantité de lipides, notamment des triglycérides. Ces molécules peuvent ensuite être transformées, grâce à une réaction de transestérification avec un alcool, en esters pouvant servir de carburant dans les moteurs à combustion. Outre leur forte productivité, les micro-algues présentent l'avantage de ne pas entrer en compétition avec les cultures destinées à l'alimentation (Rasoul et *al*, 2011).

2.6.2) Biocarburant :

Grâce à leur forte teneur en lipides, les micro algues représentent une alternative prometteuse pour la production de biocarburants. Elles pourraient remplacer les agro carburants de première génération, souvent responsables de déséquilibres environnementaux, ainsi que les biocarburants de deuxième génération issus de matières ligno -cellulosiques, dont les ressources sont limitées. Les biocarburants de

première génération sont principalement produits à partir de denrées alimentaires comme le maïs, la canne à sucre ou encore des huiles végétales telles que celles de palme, de soja et d'arachide (Gasparatos *et al.*, 2012).

Parmi les biocombustibles de deuxième génération, on peut mentionner l'éthanol dit cellulosique. Ce biocarburant est tiré des divers résidus agricoles et d'arbres à croissance rapide (la paille de blé, le peuplier, les sciures de bois …). Toutefois ce dernier pourrait avoir un impact défavorable sur l'environnement (déboisement), sur la sécurité alimentaire et la biodiversité (perte de diversité des espèces) (Evans *et al.*, 2013).

2.7) Domaine environnemental :

L'utilisation des micro-algues présente également un intérêt majeur dans le domaine environnemental, notamment pour le traitement des eaux usées et Remédiation du CO2 .

2.7.1) Traitement des eaux usées :

Les micro-algues sont capables d'absorber plusieurs nutriments essentiels à leur développement, elles peuvent alors supprimer quelques éléments contenus dans les eaux usées (figure 7).

- Elles permettent par conséquent de diminuer les taux de phosphates et nitrates.
- Elles ont une action détoxifiante et dépolluante et peuvent agir selon deux modes :
  1. soit directement grâce à leur aptitude à fixer les métaux lourds,
  2. soit indirectement dans le but de fournir de l'oxygène dissous aux bactéries favorisant la dépollution des eaux contaminées (Perales-Vela et *al.*, 2006).

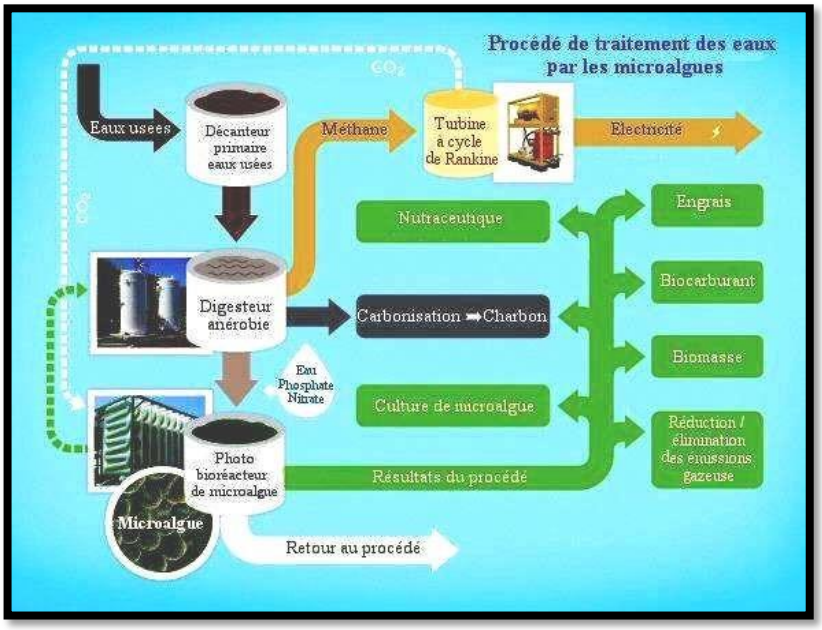


Figure 7 : Procédé de traitement des eaux par les micro algues (Filali,2012)

2.7. 2) Remédiation du CO2 :

En présence de lumière, les micro algues fixent le CO2 et génèrent de l'oxygène et de la matière organique sous forme de biomasse. Le rendement est supérieur à celui des végétaux supérieurs. Les micro algues absorbent 1.4 fois leur poids en CO2. L'utilisation de ces microorganismes représente une alternative séduisante pour la capture et la séquestration du CO2 émis par les gaz de combustion des cimenteries, des aciéries et autres incinérateurs urbains (Ho *et al*., 2011).



Étude

Expérimentale



Chapitre III :

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Nous avons effectué notre travail dans les laboratoires de microbiologie, département de biologie appliquée, faculté des sciences de la nature et de la vie, à l'Université de Cheikh Larbi-Tébessi Tébessa pendant la durée de 3 mois allant du 23 février 2025 au 13 mai 2025.

L'objectif de cette étude est d'isoler les souches de micro algues et de cyanobactéries à partir des eaux et du sol.

- après avoir évalué deux activités biologiques (antioxydants et antibactériennes). L'étude concerne également la préparation des boues activées du micro algues et des cyanobactéries.

1) matériel : le matériel se diviser en deux types :

1.1) Matériel biologique :

-Des échantillons d'eau et du sol

-Des souches indicatrices pour l'activité anti bactérienne

-Des Eaux usées

1.2) Matériels non biologique : Tout le matériel non biologiques appareillage et verrerie (tableau 5).

Tableau 5: le matériel utilisé pour les analyses sur terrain et au laboratoire

Matériels de laboratoire	Matériels de protection
- Bec bunsen -Boites pétrie - Balance - Béchers -Erlenmayers	- Tablier - Gant de protection - Gel désinfectant - Bavette

- Des tubes -Des tubes eppendorf - Portoir des tubes - Portoir des tubes eppendorf - Microscope optique -Des lames et lamelle -Anse de platine -Micro pipette -Des embouts jaune et bleus -écouvillons - Cure-dent - Autoclave -Stérilisateur - Agitateur - Réfrigérateur -étuve - Entonnoir - Lampe - Minuteur -Des flacons en verre -Glacière -Spatule -spectrophotomètre -une cuve	

2) Description de site :

Le prélèvement des échantillons a été effectué sur divers sites localisés dans plusieurs wilayas, afin d'assurer une représentativité spatiale

2.1) Présentation de la wilaya de TEBESSA :

La Wilaya de TEBESSA est située au Nord-est du pays, elle est Limites par les wilayas suivante Nord par SOUK AHRAS, L'Ouest par la wilaya de KHENCHELA, et d' OUMEl BOUAGHI, L'Est par la Tunisie, Sud par la wilaya d'El Oued.

La wilaya s'étend sur une superficie de 13.878 km2.

2.1.1) Les zone d'étude dans la wilaya de TEBESSA :

A) Barrage oued MELLEGUE : qui appartient à la commune d'EL AOUINET, Le barrage de MELLEGUE renferme principalement de l'eau douce, qui varie en fonction des saisons. Durant la saison hivernale/printemps, l'eau est relativement douce, avec une salinité faible. Contrairement En été, il y a une augmentation de la salinité. Avec un pH légèrement alcalin (ph=8) pendant les périodes de sécheresse ou d'humidité. Il y a une variation de la température en fonction des saisons. Riche en éléments minéraux (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+}, SO_4^{2-}, K^{+}, PO_4^{3-}).



Figure 8 : Barrage MELLEGUE (photo personnelle)

B) Barrage AIN ZERGA : qui appartient à la Daïra de OUENZA, est considérée comme une eau douce en raison de sa faible salinité, son pH légèrement alcalin de 8,5, de ses concentrations moyennes en nutriments no3-, no2-, NH4+, PO4-3 et de sa concentration élevée en matière organique, variables selon les saisons.

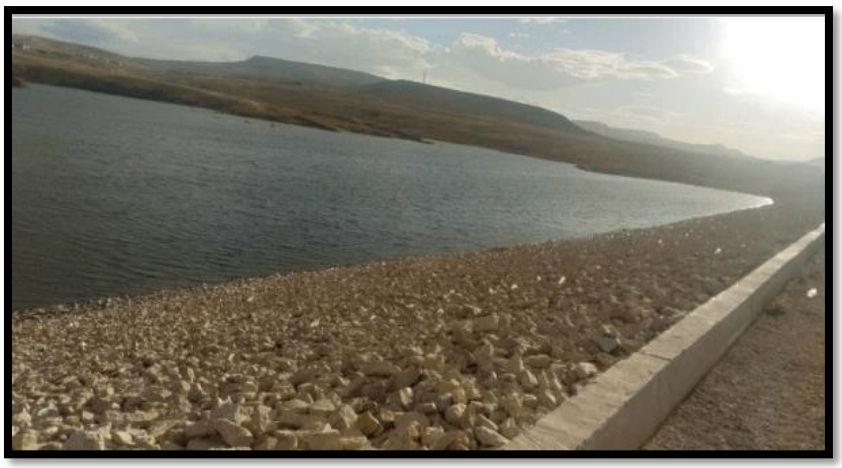


Figure 9 : barrage AIN ZERGA (Journal Annase,2024)

C) Barrage SAFSAF ELOUESRA : qui appartient à la Daïra de OUM ALI, est considérée comme une eau potable en raison de l'absence de salinité, son pH légèrement neutre de 7.



Figure 10 : barrage SAFSAF ELOUESRA (photo personnelle)

2.2) Présentation de la wilaya de SOUK-AHRAS :

La Wilaya de SOUK-AHRAS qui s'étend sur une superficie de 4.359,65 km2, est située à l'extrême Nord -Est du pays, et elle est limitée :

Au Nord par les Wilayat d'El-TAREF et GULEMA, A l'Ouest par la Wilaya d'OUM -El-BOUAGHI, Au Sud par la Wilaya de TEBESSA, A l'Est par la Tunisie sur une bande frontalière s'étalant sur 88km.

2.2.1) La zone d'étude dans la wilaya de SOUK-AHRAS:

Lacs BOURGAS à la commune de TAOURA. Le lac BOURGAS est un lac d'eau douce qui a un pH généralement basique entre 7,5 et 8, ce qui lui donne une eau neutre légèrement alcaline et une valeur nutritionnelle basée principalement sur une concentration élevée de nitrate et de phosphate. La température de l'eau peut fluctuer entre 15 °C et 25 °C degrés en fonction des saisons, ce qui en fait une eau tempérée.

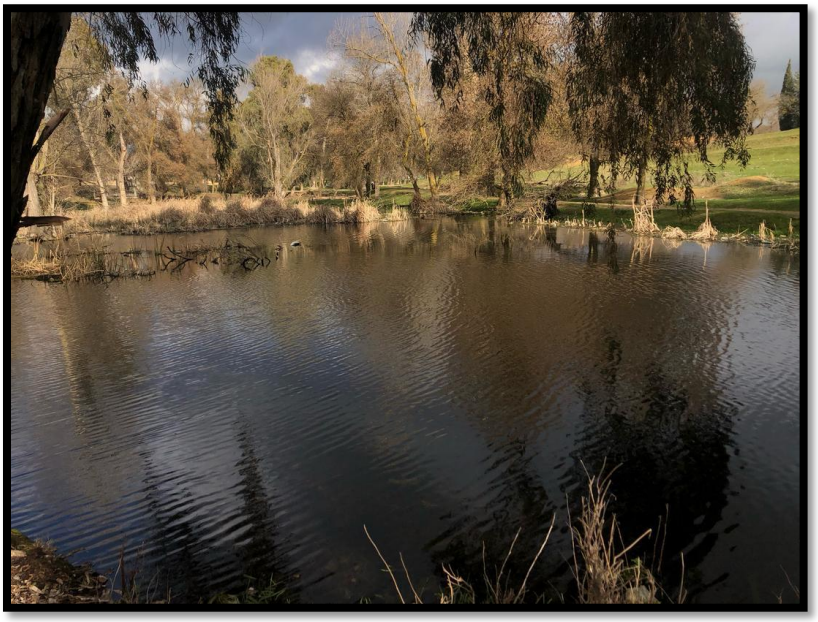


Figure 11 : lacs BOURGAS (photo personnelle)

2.3) Présentation de la wilaya d'El-TARF :

La wilaya d'El TARF est située à l'extrême nord-est de l'Algérie à la frontière tunisienne. Elle est délimitée :au nord, par la mer Méditerranée ;à l'est, par la Tunisie (Gouvernorat de Jendouba) ;au sud, par la wilaya de SOUK AHRAS ;au sud-ouest, par la wilaya de GULEMA ;à l'ouest par la wilaya d'ANNABA .

2.3.1) Les zones d'étude dans la wilaya d'El-TARF :

A) Lac des oiseaux : qui appartient à la Daïra de BOUTELJA. est un lac d'eau douce peu salée à une température généralement modérée en raison du climat et un pH neutre légèrement alcalin, avec une richesse en nutriments, avec des concentrations élevées de phosphates, de composés azotés et de métaux lourds tels que le plomb (Pb), le cadmium (Cd) et le zinc (Zn).



Figure 12 : lac des oiseaux (photo personnelle)

B) Lac TONGA : à la commune d'EL KALA. Lac TONGA est une zone humide d'eau douce peu salée à un pH de valeur légèrement alcaline entre 7,5 et 8,5, avec des nutriments tels que le nitrate, le nitrate, l'ammonium et le phosphate favorisant l'eutrophisation de l'eau, et une température entre 18,9 °C et 28,8°C .



Figure 13 : lac TONGA (photo personnelle)

2.4) Présentation de la wilaya de ANNABA :

Annaba est une ville côtière de l'Est d'Algérie à 600 km d'Alger, 3ème ville principale après la capitale Alger, et Oran. Elle s'étend sur 1 439 km² avec 80 Km sur le littoral méditerranéen.

La wilaya d'ANNABA est limitée : Au Nord par la Mer Méditerranée, A l'Est par la Wilaya d'El –TARF, A l'Ouest par la Wilaya de SKIKDA, Au Sud par la Wilaya de GULEMA.

2.4.1) Les zones d'étude dans la wilaya de ANNABA :

A) plage la caroube : Zone humide saline qui présente des variations saisonnières. En raison des apports et de l'évaporation, un pH peut varier, se situant entre neutre et légèrement alcalin, en raison de la présence de minéraux tels que le sodium, le chlorure, le sulfate, le calcium et le magnésium. Il y a une variation de la température en fonction des saisons.



Figure 14 : plage la caroube (photo personnelle)

B) plage Ain Achir : Zone de l'humidité, avec un pH légèrement alcalin. La température varie en fonction des saisons. Présence de nutriments, notamment les phosphates et les nitrates.

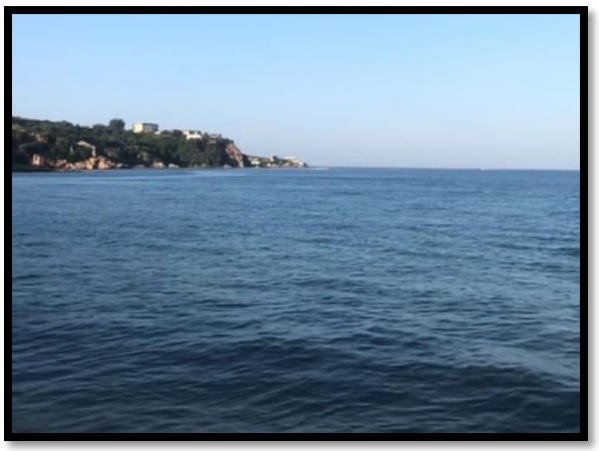


Figure 15 : plage Ain achir (photo personnelle)

3) Présentation de stations des prélèvements des échantillons :

La sélection des stations d'entraînement est basée sur l'accessibilité des stations. La première étape dans la contribution à l'étude de la biodiversité des micro algues est le choix de la période et la méthode de prélèvement qui a été en profondeur et à la surface.

Nos études se sont étendues à la période printanière, lorsque nous avons fait quatre sorties. Première sortie se fait le 15/02/2025, et la deuxième se fait le 26/02/2025, et la troisième se fait le 03/03/2025, et la quatrième se fait le 07/03/2025 (tableau 6).

Tableau 6: les échantillons prélevés (tableau personelle)

le nombre d'échantillons	**Le site de prélèvement**	**La date**
3 à 3 endroits différents 	**Barrage MELLEGUE**	**15/02/2025**

1	**Barrage SAFSAF ELOUESRA**	**07/03/2025**
1	**Barrage AIN ZERGA**	**07/03/2025**
5 à 5 endroits différents 	**Lacs BOURGAS**	**15/02/2025**
2 à 2 endroits différents 	**Lac TONGA**	**26/02/2025**
1	**Plage la caroube**	**15/02/2025**
1	**Plage Ain achir**	**15/02/2025**

7 à 7 endroits différents 	**Lac des oiseaux**	**03/03/2025**

4) Transport et conservation des échantillons avant l'analyse :

Après le prélèvement des échantillons d'eaux et du sol, ils risquent de subir des modifications Dans les flacons. Pour éviter ce risque, Leur transport doit être effectué dans des glacières, et leur conservation requiert une température constante de 4 °C au réfrigérateur afin d'assurer une stabilité optimale de leurs qualités physico-chimiques et biologiques.



Figure 16: le transport des échantillons(photo personnelle)

5) méthodes :

5.1) observation à l'état frais :

Une observation microscopique à l'état frais a été effectuée pour la confirmation de la présence ou non des micro algues et les cyanobactéries dans les échantillons collectées.

5.2) isolement et purification des souches :

5.2.1) Méthode de dilution :

L'isolement des cellules microbiennes peut être réalisé premièrement la méthode de dilution, qui repose sur l'isolation des cellules à travers une série de dilutions successives. C'est une technique facile et rapide qui produit de bons résultats (Blancheton, 1985).

Dans cette technique, un volume connu d'échantillon est mélangé avec le milieu Zarrouk et BG-11 (annexe 1) Cette technique réduit la concentration de l'échantillon ; Dans ce processus, on utilise 3 tubes à essai contenants chacun 9 ml du milieu Zarrouk et BG-11 et eau de mer. Les tubes à essai sont étiquetés comme (10 – 10-3) indiquant le facteur de dilution ; A l'aide d'une micro pipette, on ajoute 1 ml de l'échantillon au premier tube à essai étiqueté comme (10-1) et mélangé par le vortex. De ce tube à essai, 1 ml de l'échantillon est prélevé et ajouté au deuxième tube à essai représenté par 10-2 et mélangé. La procédure ci-dessus est répétée pour le tubes (10-3) .Les tubes à essai sont incubés dans un étuve à une température de 30C° pendant 24h , sous la lumière avec un cycle de lumière 24h (Lin & Guo, 2020).



Figure 17 : les dilutions incubées (photo personnelle)

5.2.2) La culture en enrichissement :

L'enrichissement consiste à créer un environnement favorable à la croissance et à la multiplication d'un groupe spécifique de micro algues. Cette étape préliminaire vise à favoriser certaines espèces au détriment d'autres, et peut faciliter par la suite l'isolement d'une souche dominante ou d'une espèce unique.
Dans cette technique, un volume connu d'échantillon est mélangé avec le milieu Zarrouk et BG-11 et eau d mer directement.

5.2.2) repiquage des souches :

Les dilutions et l'enrichissement positifs sont , suivis par un repiquage sur des milieux solides spécifiques, les boites sont incubées pendant 7 à 15 jours à 30°C.

5.2.3) la purification et la conservation des souches :

La distinction visuelle des colonies de microalgues repose sur des facteurs tels que la forme, l'apparence, la dimension, le contour, le diamètre des colonies et la couleur. L'identification des caractéristiques macroscopiques s'est particulièrement focalisée sur le chromatophore, qui offre la possibilité de distinguer les divers groupes taxonomiques.
Dans notre recherche une observation microscopique directe ainsi que une coloration de Gram ont été utilisées pour vérifier la pureté des isolats après chaque repiquage.

La conservation à long terme des souches est habituellement effectuée dans des tubes Eppendorf stériles, avec du glycérol comme agent cryoprotecteur (Baust et

Baust, 2021). Ce procédé assure la préservation de la viabilité des cellules lors du stockage à basse température, en particulier à -80 °C.

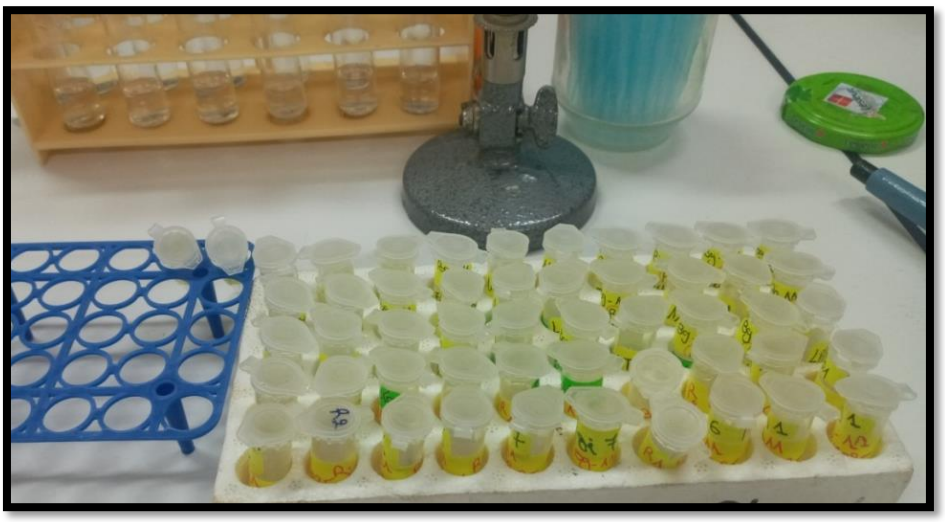


Figure 18 : la conservation des souches obtenues (photo personnelle)

5.3) l'activité antibactérienne :

5.3.1) la préparation :

L'activité antibactérienne *in vitro* vis-à-vis des différentes souches bactériennes a été réalisée par la méthode de diffusion par l'utilisation des puits.

A) Souches bactériennes indicatrice :

- *Citrobacter spp*
- *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Enterobacter cloacae*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Escherichia coli* (E1R2 - E2R2)

B) Souches bactériennes productrice :

- Sont les souches obtenues.

C) Milieux de culture :

Selon les souches bactériennes, les milieux de cultures utilisés sont suivants : Mueller

Hinton (MH) et l'eau physiologique stérile.

Remarque : Le milieu de culture, les embouts jaune et bleu, les écouvillons, les cure-dent ont été stérilisés à l'autoclave à 100°C pendant 20 minutes. Les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes ont été stérilisés au stérilisateur à 100°C pendant 30 minutes.

5.3.2) la réalisation :

L'enrichissement des bactéries utilisé : Les souches bactériennes algeals sont ensemencées dans les milieux d'enrichissement appropriées et incubées à 30 °C pendant 24 heures afin d'optimiser leur croissance.

Pour les souches bactériennes indicatrices après un enrichissement, un repiquage dans les milieux spécifiques doit être réalisé 24hs avant le test.

- La préparation de milieu de culture (annexe 1) : Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton.
- la préparation de la suspension bactérienne des souches indicatrices : dans 2 ml d'eau physiologique stérile, ajoute une colonie et homogénéise.
- L'ensemencement des suspensions bactériennes des souches indicatrices réalisé par la méthode d'écouvillonnage sur boîtes pétrie.
- dépôt des puits et le remplissage par l'ajout de 5ul de suspension bactérienne des souches productrices.

Dans le cadre de l'évaluation de l'activité antibactérienne, les cultures ont été incubées à 30 °C pendant 24 heures afin de permettre une croissance bactérienne suffisante.

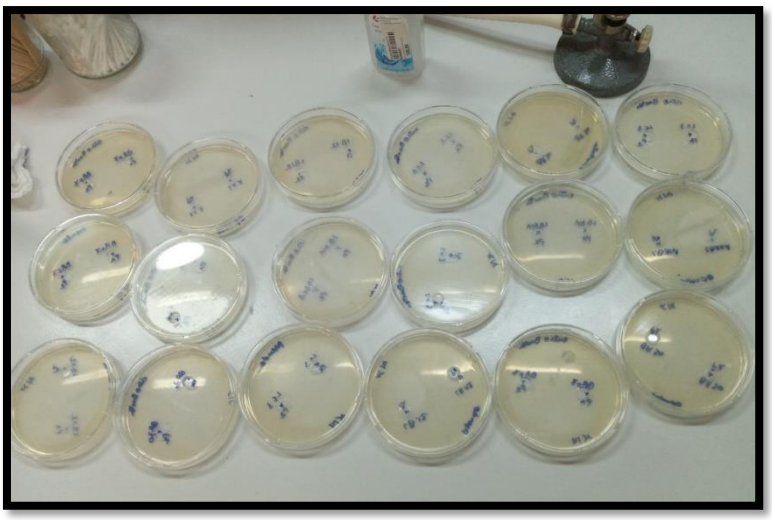


Figure 19: les boites de lactivité antibacterienne (photo personnelle)

E) La Lecture :

La lecture des résultats s'est faite 24 heures après l'incubation, par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'un pied à coulisse (mm). Le diamètre détermine l'efficacité de la matière active.

Après mesure de la zone d'inhibition, les souches sont classées en :

- **Non sensible (-) ou résistante** : diamètre moins de 8 mm.
- **Sensible (+)** : diamètre entre 9 à 14 mm.
- **Très sensible (++)** : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- **Extrêmement sensible (+++)** : diamètre plus de 20 mm (Ponce et *al*., 2003).

5.4) L'activité antioxydante :(l'ac tivité réductrice de Fer FRAP)

On a évalué l'activité antioxydante en mesurant le pouvoir réducteur. La méthode FRAP (Bassène, 2012) est utilisée pour déterminer le potentiel réducteur des extraits bioactifs des souches algeals avec quelques adaptations. 1ml de chaque extrait bioactif a été combiné à 2,5ml de tampon phosphate (0,2M ; pH=6,6) et 2,5ml d'hexacyanoferrate de potassium [K3Fe(CN)6] à 1%. Après 30 minutes d'incubation à 50°C, 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10 % ont été ajoutés au mélange et les tubes ont été centrifugés à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Ensuite, 1 ml de surnageant de chaque tube a été combiné avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de solution de FeCl3 à 0,1% et laissé reposer dans l'obscurité pendant 30 minutes avant de mesurer les absorbances à 700 nm.

L'activité antioxydante liée au pouvoir réducteur des extraits est exprimée en Pouvoir Réducteur (PR) à l'aide de la formule suivante :

Aa : absorbance de l'extrait Ab : absorbance du blanc

5.5) Essai de formation des boues activées :

Les bactéries se développent dans le milieu, aéré par un dispositif spécifique (turbine, brosse, insufflation d'air) et dégradent la pollution. Les boues, constituées de matières cellulaires actives, sont agglomérées en floc.

Un essai de simulation de la formation de boues activées, telles qu'elles se développent dans les bassins d'épuration, a été réalisé en laboratoire. Des cultures en double ou en triple ont été menées dans des tubes à essai, avec différentes concentrations, et incubées dans des chambres de culture thermostatées à 37 ± 1 °C. L'éclairage a été maintenu tout au long de la période d'incubation selon un cycle lumineux de 16 heures de lumière pour 8 heures d'obscurité (photopériode 16/8).

Chapitre IV :

Résultats et discussion

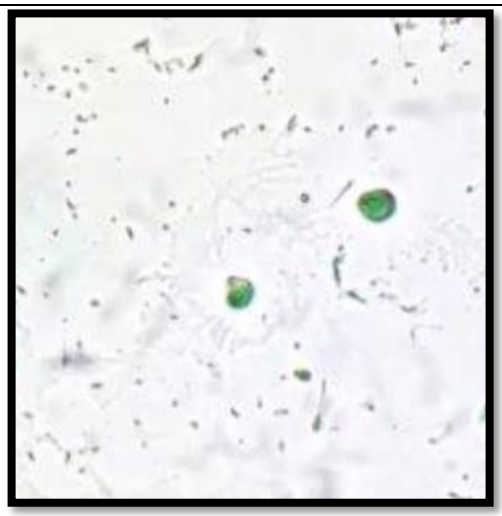
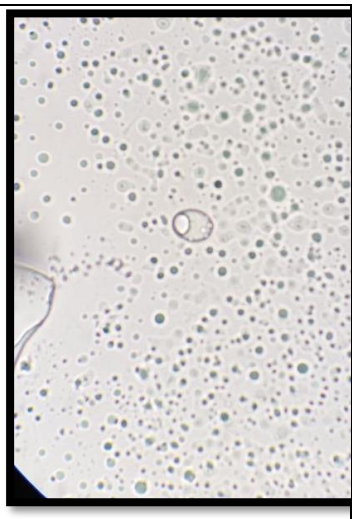
Chapitre IV : Résultats et discussion

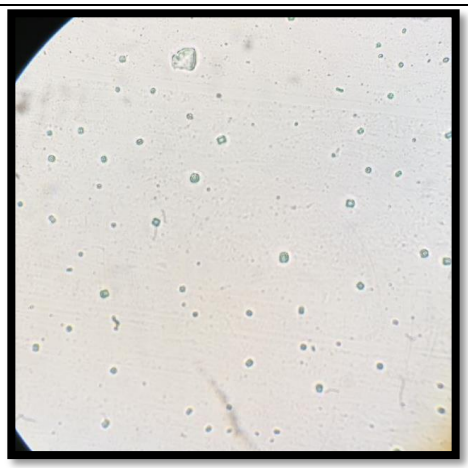
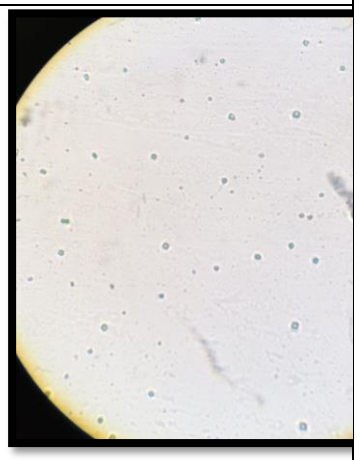
1) observation microscopique à l'état frais :

L'observation microscopique à l'état frais a permis de mettre en évidence les caractéristiques morphologiques des échantillons prélevés. Le tableau ci-dessous résume les principales observations réalisées.

Tableau 7 : résultats d'observation de quelque létat frais

Site de prélèvement	La présence ou l'absence de forme du micro algues	Photo représentative	
Barrage MELLEGUE	+		
Barrage AIN ZERGA	-		
Barrage SAFSAF ELOUESRA	-		

Lacs BOURGAS	+		
Lac TONGA	+		
Lac des oiseaux	+		

Plage la caroube	+		
Plage Ain achir	+		

Discussion :

L'étude microscopique des échantillons à divers endroits aquatiques a révélé une variété significative de micro algues, principalement attachées aux *Chlorophyta* et aux cyanobactéries. Ces observations valident, l'existence d'une biomasse algale spécifique des milieux aquatiques.

L'échantillon provenant du **barrage Mellegue** a révélé la présence d'une micro algue verte filamenteuse appartenant probablement au genre *Spirogyra*, un taxon fréquemment rencontré dans les eaux douces riches en matière organique (Reynolds, 2006). Cette identification indique un milieu favorable à l'expansion des *Chlorophyta*, fréquemment signes d'eutrophisation.

Dans le **lac Bourgas** et le **lac des Oiseaux**, l'observation de cellules vertes sphériques suggère fortement la présence de *Chlorella vulgaris* (González-Hourcade et *al.*,

2023), une micro algue unicellulaire largement utilisée pour ses propriétés biotechnologiques et sa capacité à se développer dans des conditions variées. Sa récurrence dans deux plans d'eau différents pourrait témoigner d'une large tolérance écologique de cette espèce.

L'échantillon du **lac Tonga** a, quant à lui, mis en évidence la présence de cyanobactéries formant des trichomes, appartenant probablement au genre *Aphanizomenon* (Vonarx, 2008). Ces organismes sont connus pour leur capacité à former des efflorescences (blooms) et pour leur potentiel production de toxines, ce qui soulève des préoccupations écologiques et sanitaires importantes dans les systèmes aquatiques fermés.

Concernant les milieux marins, les eaux de la **plage de la Caroube** ont révélé des structures filamenteuses appartenant probablement au genre *Oscillatoria* ou *Anabaena*, deux cyanobactéries marines bien connues pour leur abondance dans les zones côtières et leur rôle dans la fixation de l'azote (Singh et *al*., 2005). Ce résultat est représentatif d'une biodiversité spécifique aux écosystèmes marins exposés à des apports nutritifs externes.

Enfin, l'échantillon provenant de la **plage d'Aïn Achir** a montré la présence de microalgues vertes sphériques unicellulaires, compatibles avec le genre *Chlorella* (Abdullah et *al.*, 2022). Ce genre est souvent associé à des environnements côtiers où les conditions de lumière et de nutriments permettent son développement rapide.

L'ensemble de ces résultats met en lumière la diversité écologique des micro algues en fonction des conditions physico-chimiques spécifiques à chaque site. Ces observations constituent une première étape dans la caractérisation de la flore micro algale régionale, et ouvrent la voie à des études plus approfondies sur leur potentiel biotechnologique ou leur rôle dans la dynamique des écosystèmes.

2) l'isolement :

L'enrichissement des échantillons nous a donné des résultats positifs dans les trois milieux utilisés ZARROUK et BG-11 et EAU DE MER après deux semaines avec une couleur verte et une faible intensité et le milieu trouble avec un sédiment blanc. Ces résultats indiquent la présence des micro algues dans ces échantillons.



Figure 20 : photo représentatif résultat positif

Le tableau 11 présente les souches obtenues après vérification.

Tableau 8 : tableau représentatif des souches isolées et leurs origines

L'origine de souche	**Code de souche**
1. Barrage MELLEGUE site 1 (BG-11)	BM01
2. Barrage MELLEGUE site 1 (BG-11)	BM.12
3. Barrage MELLEGUE site 1 (Zarrouk)	BM.11
4. Barrage MELLEGUE site 1 (BG-11)	BR07
5. Barrage MELLEGUE site 2 (BG-11)	BR50
6. Barrage MELLEGUE site 2 (BG-11)	BR30
7. Barrage MELLEGUE site 3 (BG-11)	BR31
8. Barrage MELLEGUE site 3 (BG-11)	BR4
9. Barrage MELLEGUE site 3 (BG-11)	BR300
10. Lac BOURGAS 1 site 1 (BG-11)	LB1
11. Lac BOURGAS 1 site 1 (BG-11)	LB500
12. Lac BOURGAS 1 site 1 (BG-11)	LB101
13. Lac BOURGAS 1 site 1 (Zarrouk)	LB11
14. Lac BOURGAS 1 site 1 (Zarrouk)	LB12
15. Lac BOURGAS 1 site 2 (BG-11)	LB121
16. Lac BOURGAS 1 site 2 (BG-11)	LB122
17. Lac BOURGAS 1 site 2 (BG-11)	SJ11
18. Lac BOURGAS 2 site 1 (BG-11)	LB200
19. Lac BOURGAS 3 site 1 (BG-11)	LB311
20. Lac BOURGAS 3 site 1 (BG-11)	LB312
21. Lac BOURGAS 3 site 1 (BG-11)	LB313
22. Lac TONGA site 1 (Zarrouk)	TG1

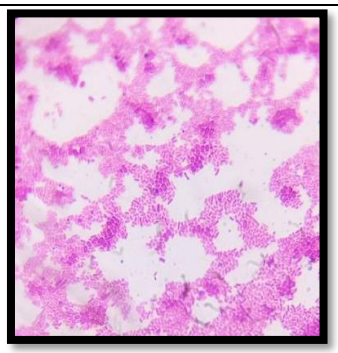
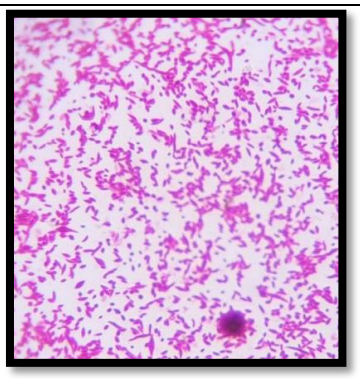
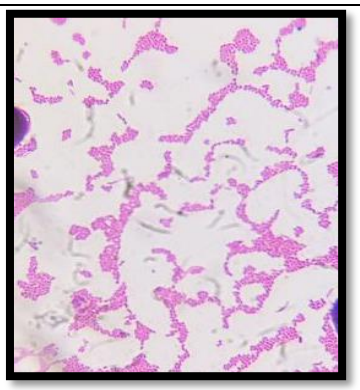
23. Lac TONGA site 2 (Zarrouk)	LG2
24. Lac TONGA site 2 (BG-11)	LT.23
25. Plage la caroube (BG-11)	LC1
26. Plage la caroube (BG-11)	LC3
27. Plage la caroube (Zarrouk)	LC07
28. Plage ain achir (BG-11)	AA1
29. Plage ain achir (BG-11)	AA02
30. Lac des oiseaux site 3 (BG-11)	OI3
31. Lac des oiseaux site 5 (BG-11)	OI5
32. Lac des oiseaux site 6 (BG-11)	OI6
33. Lac des oiseaux site 7 (BG-11)	OI7
34. Lac des oiseaux site 7 (Zarrouk)	OIZ7
35. Lac des oiseaux site 3 (Zarrouk)	OIZ3
36. Lac des oiseaux site 2 (Zarrouk)	OIZ2
37. Lac des oiseaux site 6 (Zarrouk)	OIZ 6
38. Lac des oiseaux site 5 (Zarrouk)	OIZ 5

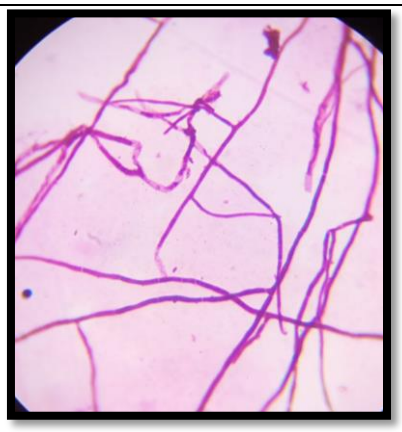
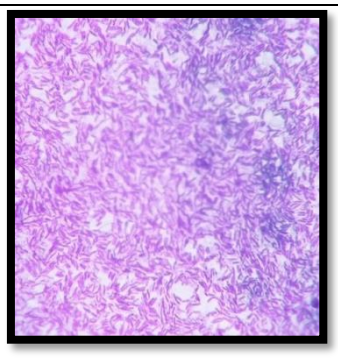
3) Identification morphologique des souches isolée :

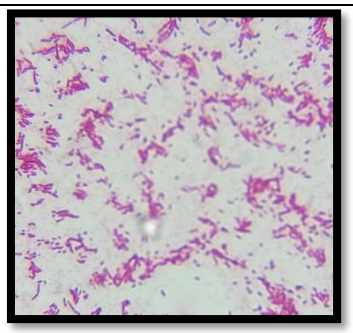
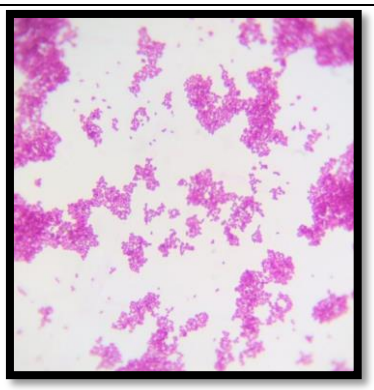
Après une comparaison avec des études précédentes, Les espèces isolées dans notre recherche ont été identifiées en se basant sur les critères morphologique (tableau 12).

Tableau 9: résultat des souches isolée

Les microorganismes suspects	**Nombre des souches isolé**	**Code des souches**	**Description morphologique**	**résultat de la coloration de gram**

***Cyanobium* sp** (Albrecht et *al.*, 2017)	1	BM01	Des procaryotes unicellulaire, sphérique ou ovoïde, d'une colonie verte d'environ 1 à 2 µm de diamètre	
***Synechococcus* sp** *(* Ahlgren at *al.*,2006)	6	BM12 BR300 BR30 LB500 LB101 SJ11	Des procaryotes unicellulaire, bâtonnet, une colonie bleu/ rose d'environ 1 à 3 µm de diamètre	
***Gloeocapsa* sp** (Bouazzara et *al.*,2020)	1	BM11	Des procaryotes unicellulaire, sphérique ou ovoïde, d'une colonie rouge orangé d'environ 5µm de diamètre	

***Leptolyngbya* sp** (*Zhou et al., 2018*)	2	LB122 AA02	Des procaryotes filamenteuse avec des colonies cylindriques vertes d'environ 1 à 3 µm de diamètre	
***Chlamydomonas* sp.** *(*Ruhal et *al.*, 2019*)*	16	LB1/LB11 LB12/LB121 BR4/LB311 LB313/LC1 LC3/TG1 BR07/LC07 OIZ7/OIZ3 OIZ2/OIZ6	Des eucaryotes sphériques ou ovoïdes, des colonies vertes d'environ 12µm de diamètre	/
Navicula sp. (Busse, 2016)	1	LT23	Des eucaryotes bâtonnés avec des colonies brunes	/
Pseudanabaena (Bernard, 2012)	1	BR31	Des procaryotes filamenteux (bacille allongés) avec des colonies bleues d'environ 5µm de diamètre	

Acinetobacter spp (Doughari et *al*., 2011)	2	LB312 AA1	Des procaryotes coccobacille a gram négatif, dune colonie d'environ 1 µm de diamètre	
Tetraspora (Abdel-Mageed et *al*., 2020)	4	OI3 OI5 OI6 OI7	Des eucaryotes sphériques, des collunes muqueuse vertes ou orangés	/
Rhodella (Zhang et *al*., 2017)	1	OIZ5	Des eucaryotes ovoïdes unicellulaires avec des colonies rouges d'environ 15µm de diamètre	/
Porphyrobacter sp (Fuerst et Sagulenko, 1993)	1	LG2	Des procaryotes, bacilles à Gram négatif, aves des colies rouge de 2 µm de diamètre	

D'après les résultats obtenus dans le (tableau 10), trente-huitres souches ont été isolées : Les souches se divise a deux classes ; des algues procaryotiques a partent au groupe des cyanobactéries et des algues escarotiques appartenant principalement au genre *Chlamydomonas* sp.

Pour les souches des cyanobactéries cinq espéce ont été identifiée *Cyanobium* sp , *Synechococcus* sp, *Gloeocapsa* sp *Leptolyngbya* sp et *Pseudanabaena*

Trois souches sont des bactéries environnemental de genre *Acinetobacter* spp, *Porphyrobacter* sp.

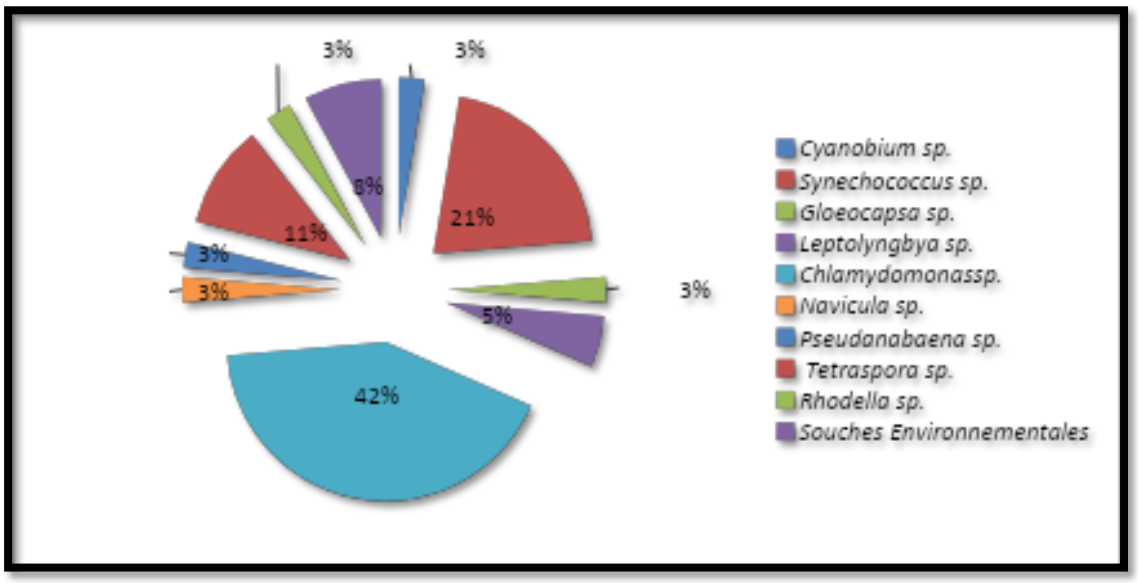


Figure 21 : les proportions de souches obtenues

Discussion :

L'étude des échantillons d'eau provenant de divers milieux aquatiques (barrages, lacs et plages) a mis en évidence une diversité microbienne significative, incluant aussi bien des cyanobactéries que d'autres bactéries environnementales. La prédominance des genres *Chlorella*, *Spirogyra* et *Aphanizomen* dans les habitats d'eau douce (lac Tonga, lac Bourgas, etc.) est en accord avec les résultats de Reynolds (2006) et González-Hourcade et *al*. (2023), qui notent la prévalence élevée de ces taxons dans les écosystèmes lacustres. De plus, la détection de cyanobactéries filamentaires telles qu'*Oscillatoria* ou *Anabaena* dans les prélèvements marins rejoint les constatations de Singh et *al*. (2005), qui caractérisent ces genres comme fréquents dans les environnements salins tropicaux. Les cyanobactéries identifiées (y compris *Cyanobium*, *Synechococcus* et *Gloeocapsa*) Connues pour leur importance écologique, notamment dans le cycle de l'azote et la production primaire (Callieri et *al*., 2014 ; Abed et *al*., 2009), les bactéries non cyanobactériennes identifiées (comme *Bacillus*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*) sont fréquemment associées à des

communautés algales dans des interactions de type mutualiste ou commensal, comme l'ont démontré Cole (1982) et Grossart et *al.* (2005). Cette diversité bactérienne pourrait intervenir dans la régulation des communautés algales, la biodégradation de la matière organique ou encore la production de métabolites bioactifs.

Ces résultats établissent que les environnements aquatiques naturels possèdent de micro-organismes comme les micro algues et les cyanobactéries, et une analyse détaillée de ceux-ci peut nous aider à mieux comprendre les interactions microbiennes, tout en ouvrant la voie à des applications potentielles en biotechnologie.

4) L'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne *in vitro* de différentes souches obtenues (des cyanobactéries et des bactéries environnementales) a été réalisée par la méthode de diffusion des puits. Cette technique est une méthode de diffusion en milieu gélosé. Elle nous a permis de détecter l'effet inhibiteur des souches envers les bactéries indicatrices utilisées.

La croissance ou non de la bactérie indicatrice ensemencée sur la gélose permet, après incubation, de déceler la présence d'une substance inhibitrice et cela par l'apparition d'une zone translucide au niveau de la zone de diffusion, alors qu'ailleurs, le développement du microorganisme est visible.

Le choix du milieu Muller- Hinton a été dicté par sa spécificité et sa richesse, permettant une bonne croissance aux bactéries indicatrices et offrant des résultats clairs grâce à sa limpidité (Microbiology Info, s.d.).

Les résultats obtenus montrent que parmi les 38 souches productrices testées, 25 isolats présentent une activité antibactérienne. La formation des zones d'inhibition autours des puits est due à la production des molécules bioactives par les isolats productrices.

L'absence d'activité antibactérienne chez certains isolats vis-à-vis des germes testés pourrait être rendu soit à la résistance des souches testés vis-à-vis les molécules antimicrobienne secrétés par ces isolats, ou bien ces dernier ne secrets pas des métabolites à activité antimicrobiennes.

L'efficacité est mesurée en millimètres (mm) de zone d'inhibition (Ponce et *al*., 2003).

➢ Activité antibactérienne sur *Citrobacter* sp :

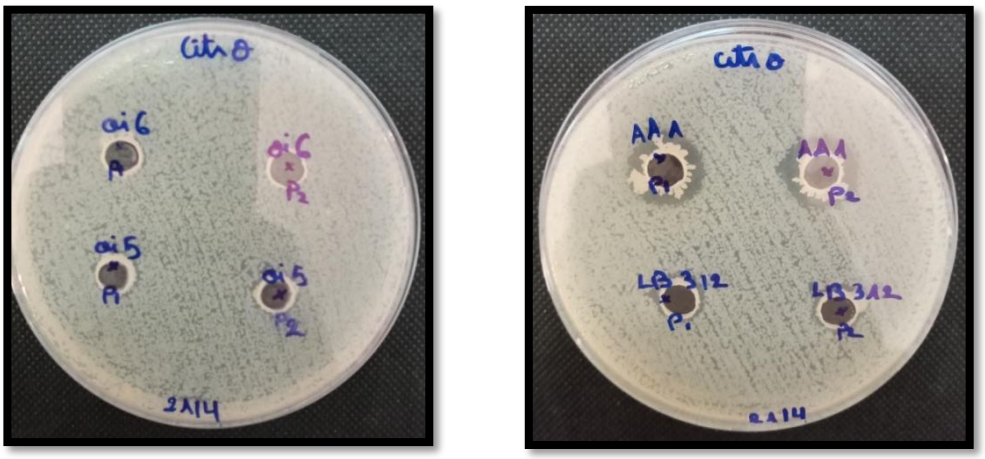


Figure 22: résultat d'activité Antibactérienne sur *citrobacter*

-Les isolats (BR30, LB12, BR07, LT23, LB121, LB311, LB313 et LB200 BR31, AA1, LB312,oi5, Bm01, oi3, Lg2, oiz5, LB1, oiz3,BR50) montrent une sensibilité variable avec les deux répétitions

-LB12 présente les plus grandes zones d'inhibition (25mm±0,35), indiquant une bonne efficacité des molécules produites par cette souche.

-Les isolats (LT23, LB121 et LB200, oi3, BM01, LB312) montrent de faibles diamètres (10.5 mm ±0,07), suggérant une résistance ou une faible sensibilité.

➢ Activité antibactérienne sur *Pseudomonas aeruginosa* :

-la souche LB12 montre une sensibilité notable avec la répétition une (28 mm) et la répétition deux (35 mm), suggérant une très bonne efficacité.

- Les isolats (oi5, BM01, AA02), montrent de faibles diamètres (10–11 mm), suggérant une résistance ou une faible sensibilité.

➢ Activité sur antibactérienne *Enterobacter cloacae* :

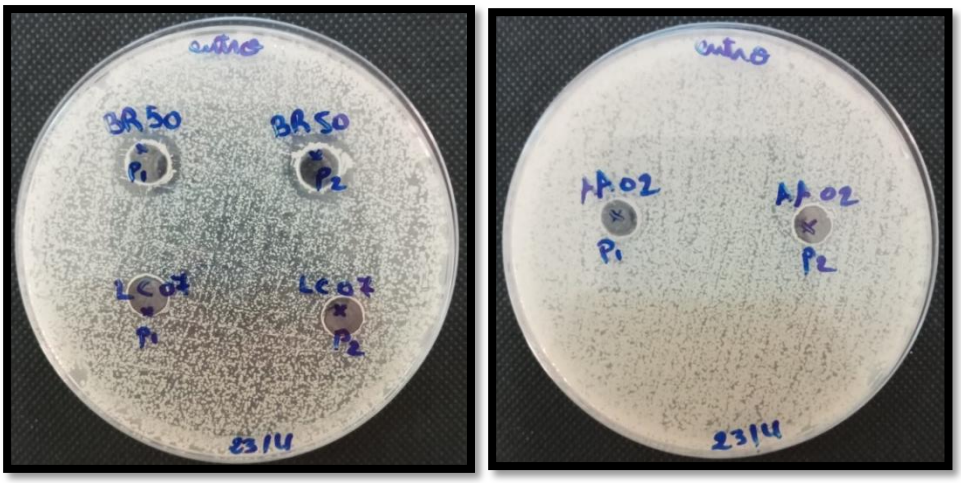


Figure 23: résultat d'activité Antibactérienne sur *Enetrobacter cloacae*

-LB12 reste très sensible aux deux r la répétition répétitions (22.5 mm±1.5).

-(BR30 oiz3), est faiblement sensible Respectivement avec des diamètre de 16mm±0,07 et 14mm±0,05.

➢ Activité antibactérienne sur *Escherichia coli* (E1R2 - E2R2) :

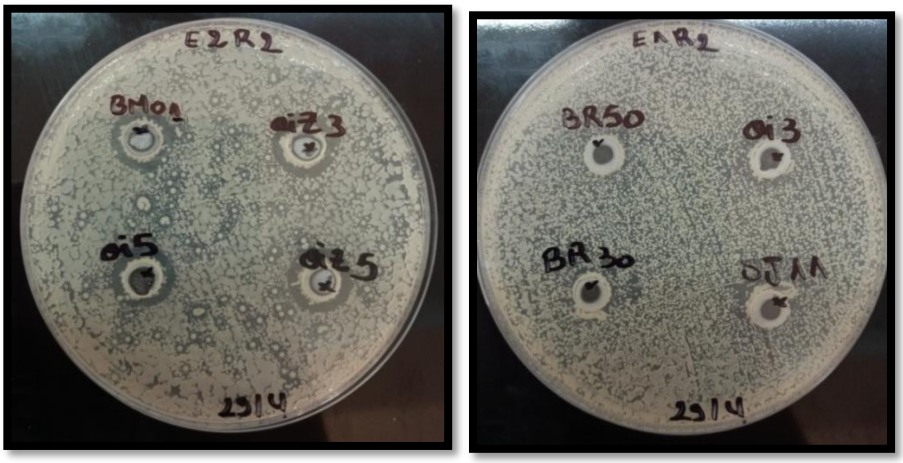


Figure 24: résultat d'activité Antibactérienne sur *Escherichia coli*

-les isolats (LB12 BM01), ont enregistré, avec une sensibilité modérée.

-Ces valeurs sont proches du seuil de résistance, indiquant une efficacité limitée.

➢ Activité antibactérienne sur *Klebsiella pneumoniae*(E3R2) :

- seul les souches (BM01, oiz3) ont noté une sensibilité modérée.

-Ces valeurs sont proches du seuil de résistance, indiquant une efficacité limitée.

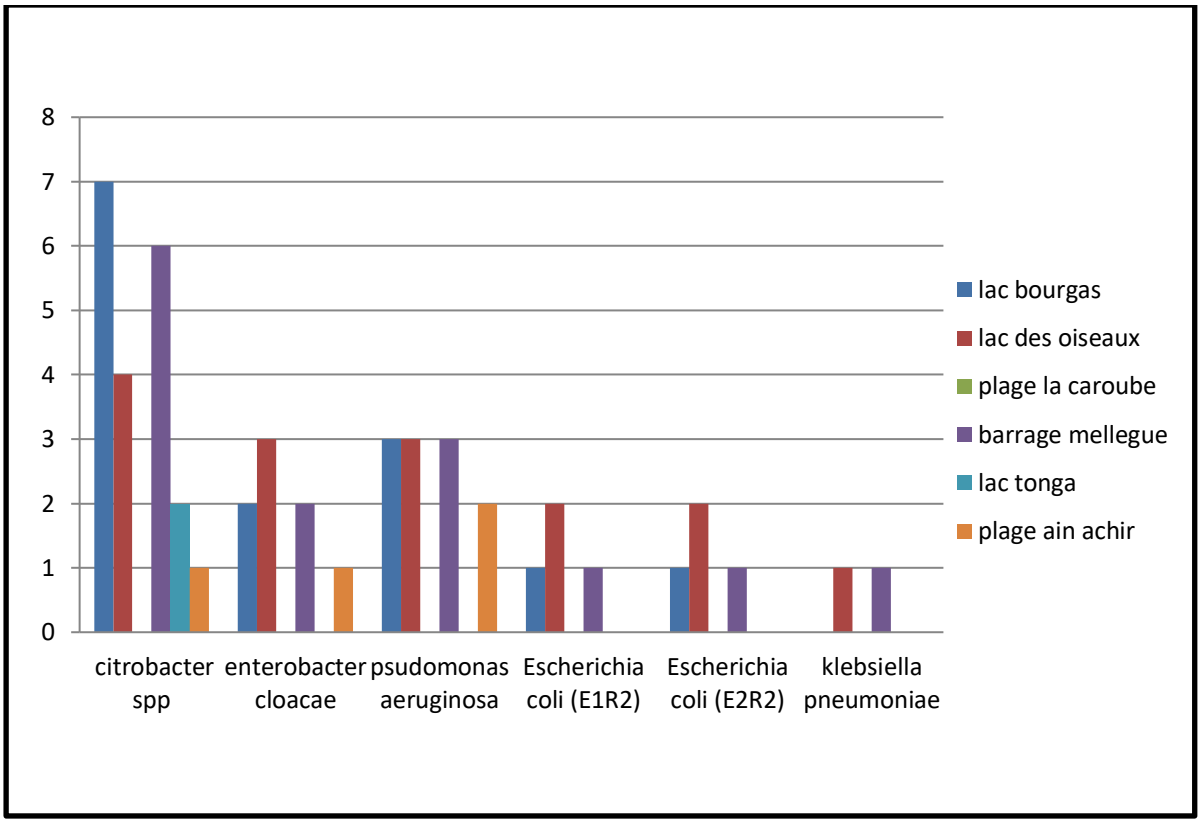
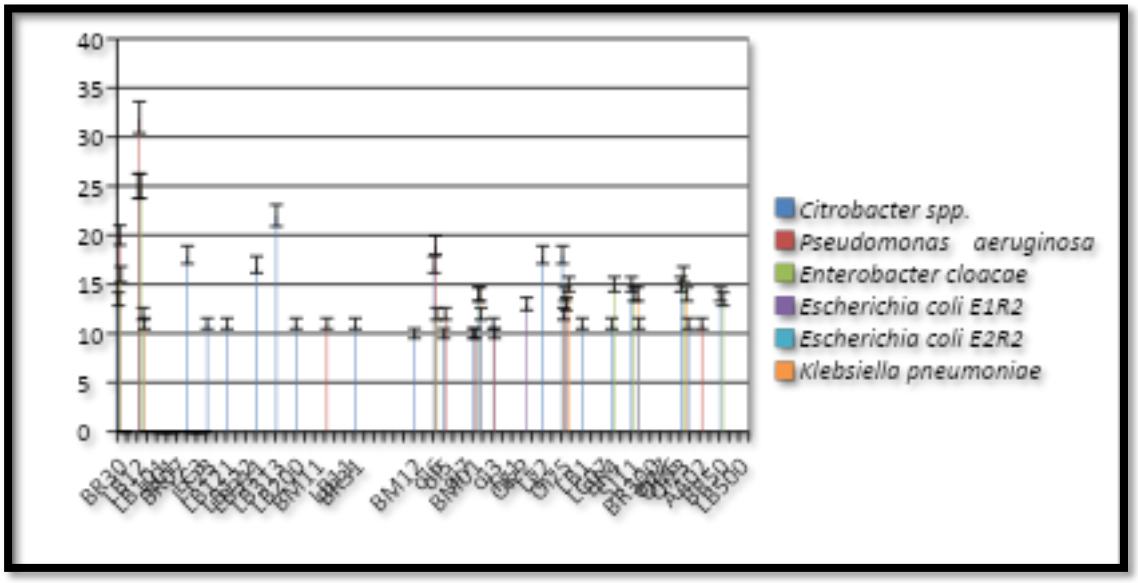


Figure 25 : l'activité antibactérienne positive des isolats selon le site de prélèvement



Discussion :

L'analyse de l'activité antibactérienne des isolats microbiens issus de différents six sites aquatiques naturels algériens (Barrage Mellegue, lac Bourgas, lac des Oiseaux, lac Tonga, plage Ain Achir, plage La Caroube, sol) révèle une variabilité notable, influencée principalement par l'origine écologique des isolats.

Les isolats provenant des milieux lacustres continentaux, notamment **le Barrage Mellegue** et **le lac Bourgas**, ont présenté la plus forte activité antibactérienne. Ces deux sites se distinguent par une inhibition marquée de plusieurs souches testées. Cette efficacité accrue peut être attribuée à une diversité microbienne riche, favorisée par des conditions environnementales propices — telles que la stagnation de l'eau, la matière organique abondante et une forte pression de compétition — qui stimulent la biosynthèse de métabolites secondaires. Ces observations sont en accord avec les études de Berdy (2005) et Abdelmoumen et *al*. (2020**)**, qui ont mis en évidence le potentiel métabolique élevé des souches actinomycètes issues de zones humides algériennes.

En comparaison, les isolats issus de **lac des Oiseaux** et de **plage Ain Achir** montrent une activité modérée. Au lac des Oiseaux, l'activité reste concentrée sur certaines souches, suggérant une diversité fonctionnelle plus restreinte ou une influence défavorable de facteurs abiotiques comme le pH, la température ou la salinité. Ces résultats rejoignent les conclusions de Zothanpuia et *al*. (2018) sur le rôle régulateur des conditions écologiques dans la production d'antibiotiques chez les Actinobacteria.

Les **plages côtières** (La Caroube et Ain Achir) et **le lac Tonga** se caractérisent par une activité antibactérienne faible voire absente.

Les isolats halophiles qui y résident semblent davantage adaptés à des conditions extrêmes qu'à la production de composés bioactifs à large spectre. Cela rejoint les travaux de Tiwari et Gupta (2012**)** et Benhadj et *al*. (2019), qui précisent que bien que ces environnements puissent abriter des microorganismes d'intérêt biotechnologique, leur activité reste souvent ciblée et limitée à certaines souches.

Ces résultats soulignent l'importance du contexte écologique dans la régulation de la biosynthèse de composés antibactériens, et mettent en évidence le potentiel des

écosystèmes lacustres comme réservoirs de nouvelles souches productrices de métabolites actifs.

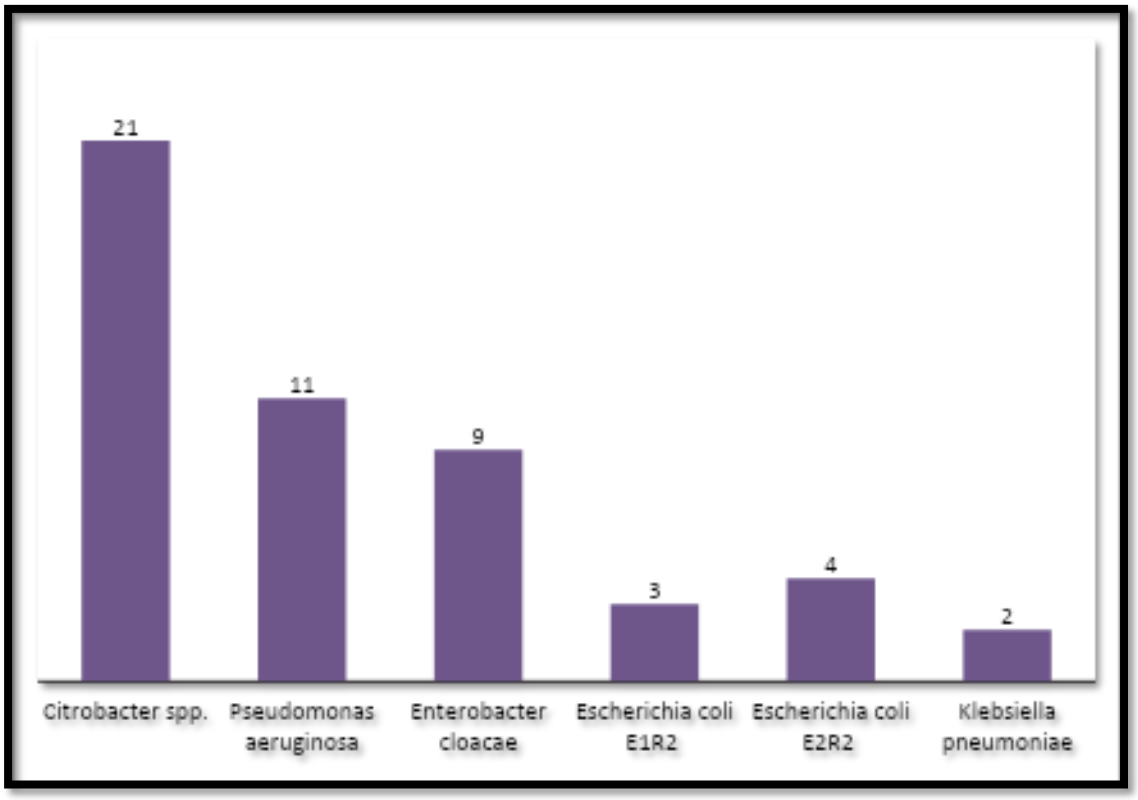


Figure 26 : Efficacité antibactérienne des isolats algales en fonction des souches indicatrices

Ce histogramme met en évidence des variations notables dans l'activité antibactérienne des isolats selon les espèces bactériennes ciblées.

Discussion :

L'évaluation de l'activité antibactérienne des souches isolées a révélé une efficacité variable selon les bactéries testées. Les résultats indiquent que les isolats ont montré la plus forte activité contre *Citrobacter*, avec 21 isolats producteurs de zones d'inhibition, suivis de *Pseudomonas aeruginosa* (11 souches actives) et *Enterobacter* (9 souches). Ce profil d'activité antibactérienne est en accord avec les observations d'El-Baky et *al.* (2013), qui ont rapporté une inhibition notable de *Citrobacter freundii* par des extraits de micro algues vertes, notamment *Chlorella vulgaris*.

Par comparaison, l'étude de Bhagavathy et *al*. (2011) sur des extraits de cyanobactéries a également montré une inhibition marquée contre *Pseudomonas aeruginosa,* ce qui confirme la capacité des métabolites algaux à agir même contre des pathogènes opportunistes multi résistants. Nos résultats corroborent cette observation, bien que l'effet sur *P. aeruginosa* demeure modéré en comparaison avec *Citrobacter*.

En revanche, les souches multi résistantes comme *E. coli* (E1R2, E2R2) et *Klebsiella* (E3R2) se sont révélées plus résistantes, avec un nombre limité d'isolats montrant une activité inhibitrice. Cependant, un isolat a tout de même montré une activité antibactérienne contre *E. coli* E2R1, ce qui suggère la présence de métabolites actifs ciblant cette souche spécifique malgré sa résistance connue. Ceci est similaire aux résultats rapportés par Abedin et Taha (2008), qui ont observé une faible sensibilité des entérobactéries multi résistantes aux extraits de cyanobactéries du genre *Oscillatoria*. Cela peut s'expliquer par la présence de pompes d'efflux ou de biofilms qui empêchent l'action des métabolites bioactifs. L'activité antibactérienne de l'extrait d'algues pourrait être attribuée egalement à la présence de divers composés chimiques, tels que le 1-octadécène, le 1-heptadécane, les flavonoïdes, les triterpénoïdes, les composés phénoliques, les acides gras, l'acide acrylique ou un groupe hydroxyle libre. Selon Al-Ghanayem (2017), les acides gras insaturés et saturés à longue chaîne (comptant plus de 10 atomes de carbone) ont la capacité de lyser les protoplastes bactériens.

Ces comparaisons mettent en lumière la variabilité de la réponse bactérienne en fonction de la nature des métabolites algaux, de la structure de la paroi cellulaire des bactéries, et du niveau de résistance intrinsèque ou acquise. Elles soulignent également l'importance de poursuivre les investigations sur l'extraction, la purification et la caractérisation des composés actifs.

Il serait également pertinent de comparer nos résultats à ceux obtenus localement en Algérie. Par exemple, l'étude de Belyagoubi et *al*. (2023), menée sur des micro algues *Spirogyra* isolées d'habitats d'eau douce en Algérie, a montré des zones d'inhibition importantes contre *E. coli*. Ce résultat est cohérent avec notre propre observation d'une activité antibactérienne contre *E. coli* E2R1, ce qui pourrait indiquer une similarité dans la composition des extraits actifs ou dans les espèces de micro algues

présentes dans les deux environnements. Cette convergence suggère un potentiel prometteur des souches locales dans la lutte contre les bactéries multi résistantes.

5) Activité antioxydante :

Le pouvoir réducteur

Les algues sont reconnues pour leur richesse en composés bioactifs, notamment les polyphénols, les caroténoïdes, les flavonoïdes et certains pigments comme les phycobilines, qui leur confèrent un fort pouvoir antioxydant. Le pouvoir réducteur des extraits d'algues traduit leur capacité à donner des électrons à des espèces oxydantes, comme le fer ferrique (Fe^{3+}), le réduisant ainsi en fer ferreux (Fe^{2+}). Ce mécanisme reflète leur potentiel à neutraliser les radicaux libres et à prévenir le stress oxydatif. Plusieurs études ont mis en évidence une forte corrélation entre le pouvoir réducteur des algues et leur activité antioxydante globale, ce qui en fait des candidates prometteuses pour des applications dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire.(Mouffouk, 2019). Plusieurs études ont montré que le pouvoir réducteur est souvent fortement corrélé à leur activité antioxydante.

Le test de pouvoir réducteur des extraits d'isolats algaux a été réalisé *in vitro*. Les pourcentages de ces pouvoirs nous ont permis de tracer un histogramme exponentiel pour chaque algue (figure 27).

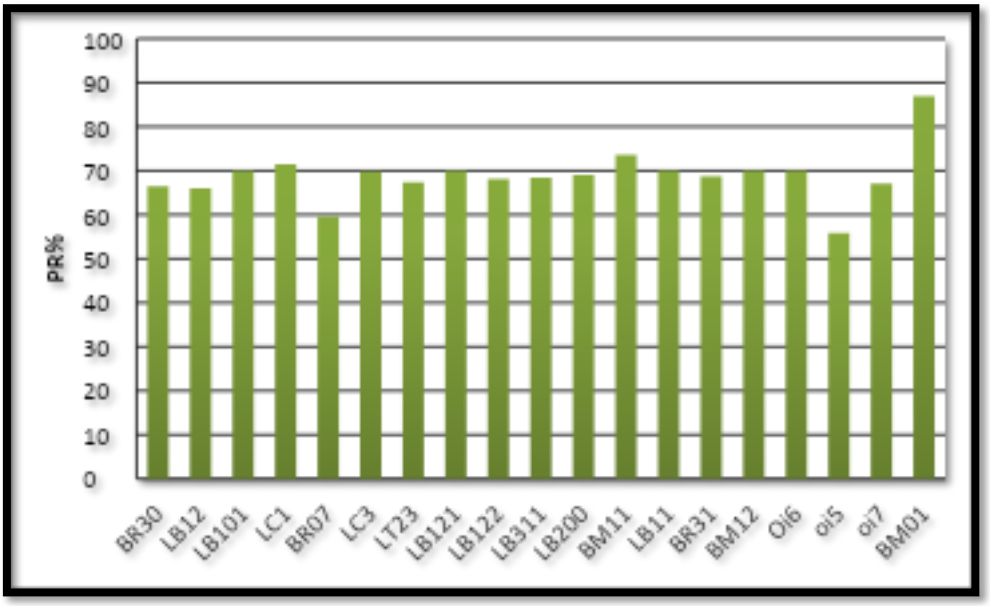


Figure 27 : Pouvoir réducteur des souches algales

Le pouvoir réducteur le plus élevés est observé chez la cyanobactérie BM01, ceci peut s'expliqué par la structure chimique de la chlorophylle qui est comparable à celle de l'hémoglobine. Elle favorise la régénération des tissus en facilitant un échange efficace entre le dioxyde de carbone et l'oxygène. Par ailleurs, certains de ses dérivés, comme le phéophorbide b et la phéophytine b, présentent une forte activité antioxydante (Hajati, 2015).

6) Essai de formation des boues activées et traitement des eaux usées :

Les micro-algues sont des micro-organismes photosynthétiques capables de capter l'énergie solaire pour assurer leur croissance, tout en assimilant le dioxyde de carbone (CO_2) et divers minéraux [Pedroni P., Davison J., Beckert H., Bergman P. and Benemann J. (2001). A proposal to establish an international network on biofixation of CO2 and greenhouse gas abatement with microalgae. Journal of energy and environmental research., 1(1), 136-150]. Au cours de leur développement, elles accumulent une grande diversité de composés organiques, notamment des protéines, des lipides, des glucides, des hydrocarbures, ainsi que différentes petites molécules et pigments [Pulz O. and Gross W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. Appl. Microbiol. Biotechnol., 65, 635–648].

Les algues cultivées dans les eaux usées présentent de nombreuses applications potentielles. Elles peuvent être valorisées comme aliments pour les animaux et les poissons, ou utilisées dans la fabrication de produits chimiques, d'engrais, de bioplastiques, de peintures et de colorants Krishna A.R., Dev L. and Thankamani V. (2012). An integrated process for Industrial effluent treatment and Biodiesel production using Microalgae : Review Article. Research in Biotechnology., 3(1), 47-60

L'inoculation des algues et des cyanobactéries à différentes concentrations dans les eaux usées a conduit à deux types de résultats. D'une part, une dégradation notable des contaminants accompagnée d'une clarification de l'eau a été observée. D'autre part, dans certains tubes d'essai ensemencés, la formation d'un précipité blanc au fond, associée à une clarification nette du surnageant, suggère le début d'un processus de formation de boues activées (figure 28).



Figure 28 : Résultat de la formation des boues activées

Ces observations s'inscrivent dans le cadre d'un essai préliminaire de criblage, destiné à identifier les souches microbiennes isolées présentant un potentiel intéressant pour la biorémédiation des eaux usées.



Conclusion générale



L'isolement des cyanobactéries et des micro algues est une étape cruciale pour étudier leur diversité, leur physiologie et leur potentiel biotechnologique. au cours de ce travail, nous avons mis en œuvre différentes techniques de prélèvement, d'enrichissement, de culture et d'identification visant à isoler des souches pures à partir d'échantillons environnementaux.

Les résultats obtenus ont prouvé l'efficacité des méthodes employées pour isoler plusieurs genres représentatifs, que ce soit en deux milieu liquide ou solide La classification préliminaire des souches isolées a été effectuée grâce aux observations morphologiques (***Synechococcus sp- Leptolyngbya sp- Gloeocapsa sp – Pseudanabaena spp Tetraspora*** **sp. et** ***Rhodella*** **sp** ***)***aux premières analyses microscopiques, ce qui a ouvert la voie à des études moléculaires plus approfondie Et qui ont une activité antibactérienne importante ainsi ontioxydante

La production de boues activées à partir de microalgues représente un choix prometteur et respectueux de l'environnement par rapport aux méthodes traditionnelles de traitement des eaux usées. En collaboration avec les bactéries, les microalgues jouent un rôle dans l'élimination des polluants tout en produisant de l'oxygène, ce qui réduit les besoins en aération mécanique. Ce procédé révolutionnaire permet une amélioration de l'efficacité du traitement et la valorisation de la biomasse algale pour des applications potentielles en bioénergie, agriculture ou industrie. Son évolution permet d'envisager des systèmes de dépollution plus durables et économiquement viables

Ce travail met en évidence la richesse biologique des milieux aquatiques examinés, tout en soulignant l'importance d'un protocole rigoureux pour la création de cultures axéniques. Les souches isolées sont cruciales pour de futures applications en bioénergie, en dépollution, en agriculture ou en pharmacologie, confirmant leur importance stratégique dans les domaines scientifiques et industriels.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdel-Mageed, W.M., Juhasz, B., Lehri, B., Alqahtani, A.S., Nouioui, I., Pech-Puch, D., Tabudravu, J.N., Goodfellow, M., Rodríguez, J., Jaspars, M., et al. (2020). *Marine Drugs*, 18(3), 131.

Abdelmoumen, H., Zitouni, A., Abdallah, N., Boudjella, H., Mathieu, F., & Lebrihi, A. (2020). Diversity and antibacterial activity of actinomycetes from Algerian freshwater wetlands. *Microbiological Research, 240*, 126552.

Abdullah, M. F. F., Yusoff, F. M., Shariff, M., & Arshad, A. (2022). Morphological and molecular characterization of microalgae isolated from freshwater riverine areas of Glami Lemi River, Negeri Sembilan, Malaysia. *PeerJ*, 10, e14444.

Abed R.M, Dobretsov S, Sudesh K, 2009. application of cyanobacteria in biotechnology. Journal of applied microbiology ; 106(1) : 1-12.

Abed, R. M. M., Dobretsov, S., & Sudesh, K. (2009). Applications of cyanobacteria in biotechnology. *Journal of Applied Microbiology*, 106(1), 1–12.

Abedin, R. M. A., & Taha, H. M. (2008). Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae. *Evaluation of bioactivity of algal extracts, International Journal of Agriculture and Biology*, 10(4), 621–624.

Ahlgren, N. A., Rocap, G., & Chisholm, S. W. (2006). Clade-specific 16S ribosomal DNA oligonucleotides reveal the predominance of a single marine Synechococcus clade across the global ocean. *Applied and Environmental Microbiology, 72*(1), 453–463.

Albrecht, M., Pröschold, T., & Schumann, R. (2017). Identification of cyanobacteria in a eutrophic coastal lagoon on the southern Baltic coast. *Frontiers in Microbiology, 8*, 923.

B

Baust, J. G., & Baust, J. M. (2021). Cryopreservation: An overview of principles and cell-specific considerations. *Cells*, *10*(3), 1–24.

Becker E. W.,1994. Microalgae Biotechnology and microbiology. Cambridge Press University.

Belyagoubi, L., Chaibi, R., Gouzi, H., Aïssaoui, F. Z., Benamar, Z. E. O., & Belyagoubi-Benahmou, N. (2023). *Phycochemistry study and antimicrobial activity of Spirogyra freshwater green microalgae from Algeria*. Journal of Natural Product Research and Applications, 3(2), 47–60.

Benhadj, M., Gacemi-Kirane, D., Zitouni, A., Mathieu, F., Sabaou, N., & Lebrihi, A. (2019). Halophilic actinomycetes from Algerian chotts as a source of new antimicrobials. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *35*(3), 43.

Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics, 58*(1), 1–26.

Bernard, C. (2014). *Les cyanobactéries et leurs toxines = Cyanobacteria and cyanotoxins*. **Revue Francophone des Laboratoires**, *2014*(460), 53–68.

Bernard, K. (2012).*The genus Corynebacterium and other medically relevant coryneform-like bacteria*.**Journal of Clinical Microbiology, 50(10), 3152–3158**

Bhagavathy, S., Sumathi, P., & Jancy Sherene Bell, I. (2011). Antibacterial activity of green algae (*Chlorococcum humicola*) from different habitats. *Journal of Ecobiotechnology*, 3(1), 15–17.

Bhowmick, S., Mazumdar, A., Moulick, A., & Adam, V. (2020). *Algal metabolites: An inevitable substitute for antibiotics*. *Biotechnology Advances*, **43**, 107571.

Bouazzara, H., Benaceur, F., Chaibi, R., Boussebci, I., & Bruno, L. (2020). Combined effect of temperature, pH and salinity variation on the growth rate of *Gloeocapsa* sp. in batch culture method using Aiba and Ogawa medium. *Eurasian Journal of Biosciences*, *14*(2), 1701–1709.

Bulgakov N.G., Levich A.P., 1999. The nitrogen:phosphorus ratio as a factor regulating phytoplankton community structure,Archiv für Hydrobiologie, 146(1), 3–22.

Bumbak F., Cook S., Zachleder V., Hauser S., Kovar K., 2011. Best practices in heterotrophic high cell-density microalgal processes: achievements, potential and possible limitations. Applied microbiology and biotechnology, 91(1), 31–46.

Busse, H.-J. (2016). Review of the taxonomy of the genus *Arthrobacter*, emendation of the genus *Arthrobacter* sensu lato, proposal to reclassify selected species into novel genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(1), 9–37.

C

Callieri, C., Coci, M., Corno, G., & Caravati, E. (2014). Synechococcus niche partitioning and diversification in the pelagic zone of a peri-alpine lake. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(7), 2365–2372.

Cavalla.M, Algues-Microalgues, (2000).

Chen, W.-M., Chang, T.-H., Sheu, D.-S., & Sheu, S.-Y. (2021). *Rhodobacter ruber* sp. nov., isolated from a freshwater pond. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(2), 004502.

Coêlho, D. de F., Tundisi, L. L., Cerqueira, K. S., Rodrigues, J. R. da S., Mazzola, P. G., Tambourgi, E. B., & de Souza, R. R. (2019). Microalgae: Cultivation aspects and bioactive compounds. Brazilian Archives of Biology and Technology, 62, e19180343.

Cole, J. J. (1982). Interactions between bacteria and algae in aquatic ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13(1), 291–314.

Croft M.T., Warren M.J., Smith, A.G., 2006. Algae need their vitamins. Eukaryotic cell, 5(8), 1175–83. Dismukes G.C., Carrieri D., Bennette N., Ananyev G.M., Posewitz M.C., 2008. Aquatic phototrophs: efficient alternatives to land-based crops for biofuels. Current opinion in biotechnology, 19(3), 235–40.

D

De Reviers, B., 2003. Biologie et phylogénie des algues. Belin.

Doughari, H. J., Ndakidemi, P. A., Human, I. S., & Benade, S. (2011). *The ecology, biology and pathogenesis of Acinetobacter spp.: An overview*. **Microbes and Environments**, 26(2), 101–112.

Droop M.R., 2007. Vitamins, phytoplankton and bacteria: symbiosis or scavenging? Journal of Plankton Research, 29(2), 107–113.

E

El-Baky, H. H. A., El Baz, F. K., & El-Baroty, G. S. (2013). Evaluation of marine algae as a source of natural antibacterial compounds. *African Journal of Biotechnology*, 7(12), 1958–1968.

F

Fuerst, J. A., & Sagulenko, E. (1993). *Porphyrobacter neustonensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic bacteriochlorophyll-synthesizing budding bacterium from fresh water. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43(1), 125–134.

G

Gao, H., Wang, Y., Huang, Z., Yu, F., Hu, X., Ning, D., & Xu, X. (2024). *Development of Leptolyngbya sp. BL0902 into a model organism for synthetic biological research in filamentous cyanobacteria*. **Frontiers in Microbiology, 15**, 1409771.

González-Hourcade, M., Rodríguez, H., & Núñez, O. (2023). Occurrence of *Chlorella vulgaris* in freshwater lakes of Europe. *Aquatic Botany*, 180, 103543.

Grossart, H. P., Levold, F., Allgaier, M., Simon, M., & Brinkhoff, T. (2005). Marine diatom species harbour distinct bacterial communities. *Environmental Microbiology*, 7(6), 860–873.

Guedes, A. C., Amaro, H. M., & Malcata, F. X. (2011). Microalgae as sources of high added-value compounds—a brief review of recent work. *Biotechnology Progess,* 27(3), 597–613.

K

Kim, S. J., Kim, M.-S., Park, E.-J., Kim, H., Park, S., Kim, K. H., & Cho, J.-C. (2022). Assessment of *Erythrobacter* species diversity through pan-genome analysis. *Frontiers in Microbiology, 13*, 972327.

L

Lin, H., & Guo, W. (2020). Effects of light intensity and exposure period on the growth of cyanobacteria. *Water, 12*(2), 407.

Logan, N. A., & De Vos, P. (2015). Bacillus. In Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria.

M

Mahlangu, D., Mphahlele, K., De Paola, F., & Mthombeni, N. H. (2024, March 11). *Microalgae Cultivation Techniques and Growth Conditions*. Encyclopedia.

Masojídek, J., Torzillo, G., & Koblížek, M. (2013). Photosynthesis in microalgae. In A. Richmond & Q. Hu (Eds.), *Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology* (2nd ed., Chapter 2).

Microbiology Info. (s.d.). *Mueller Hinton Agar (MHA) – Composition, Principle, Uses and Preparation*. Récupéré le 31 mai 2025

Miyashita K, 2006. American chemical society. Annual meeting, sanfrancisco.

Morya, S., Chattu, V. K., Khalid, W., Khalid, M. Z., & Siddeeg, A. (2023). Potential protein phycocyanin: An overview on its properties, extraction, and utilization. *International Journal of Food Properties, 26*(1), 1–16.

P

Pelmont, J. (2008). *Glossaire de biochimie environnementale*. Les Ulis, France : EDP Sciences.

R

Radhouani, H., Silva, N., Poeta, P., Torres, C., Correia, S., & Igrejas, G. (2014). Urban lakes as a reservoir of antimicrobial resistance: an ecological perspective. *Microbial Drug Resistance, 20*(3), 231–237.

Rastogi, R. P., Madamwar, D., & Incharoensakdi, A. (2015). Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites. *Biotechnology Reports*, 6, 41–48.

Redfield A., 1934. On the proportions of organic derivations in sea water and their relation to the composition of plankton, 177 – 192.

Reynolds, C. S. (2006). *Ecology of Phytoplankton*. Cambridge University Press.

Rippka, R. (1988). Isolation and purification of cyanobacteria. In L. Packer & A. N. Glazer (Eds.), *Methods in Enzymology* (Vol. 167, pp. 3–27). Academic Press.

Ross, C., & Bridgeman, T. B. (2008). *Quantification of cyanobacterial toxins in lake water using ELISA and HPLC*. **Environmental Toxicology,** 23(6), 508–516.

Ruhal, R., Tripathi, A., Kumar, M., & Yadav, S. (2019). *Micrococcus luteus: a potential environmental bacterium for bioremediation.* Environmental Science and Pollution Research, 26, 2401–2411.

S

Sialve, B., & Steyer, J.-P. (2013). Les microalgues, promesses et défis. *Innovations Agronomiques*, 26, 25-39.

Singh, J. S., Kumar, A., Rai, A. N., & Singh, D. P. (2005). Cyanobacteria: a precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1234.

Singh, R. K., Tiwari, S. P., Rai, A. K., & Mohapatra, T. M. (2011). Cyanobacteria: an emerging source for drug discovery. *The Journal of Antibiotics*, 64(6), 401–412

Singh, S., Kate, B. N., & Banerjee, U. C. (2005). Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: An overview. Critical Reviews in Biotechnology, 25(3), 73–95.

Song, Y., Wang, L., Qiang, X., Gu, W., Ma, Z., & Wang, G. (2022). The promising way to treat wastewater by microalgae: Approaches, mechanisms, applications and challenges. *Journal of Water Process Engineering, 49*, 103012.

Suuronen, M., Virtanen, V., Mäkelä, M., Kankaanpää, R., Romantschuk, M., & Sinkkonen, A. (2021). Isolation and characterization of *Arthrobacter* sp. strains degrading pesticides from agricultural soil. *Journal of Applied Microbiology, 131*(3), 1415–1427.

T

Takarada, H., Sekine, M., Kosugi, H., Matsuo, Y., Fujisawa, T., Omata, S., & Ogasawara, N. (2008). Complete genome sequence of the soil actinomycete *Micrococcus luteus*. *DNA Research*, 15(5), 253–263.

Thoré, E. S. J., Muylaert, K., Bertram, M. G., & Brodin, T. (2023). Microalgae. *Current Biology*, 33(3), R91–R95.

Tiwari, K., & Gupta, R. K. (2012). Rare actinomycetes: A potential storehouse for novel antibiotics. *Critical Reviews in Biotechnology, 32*(2), 108–132.

V

Van den Hende, S., Vervaeren, H., & Boon, N. (2012). Flue gas compounds and microalgae: (Bio-)chemical interactions leading to biotechnological opportunities. *Biotechnology Advances*, **30**(6), 1405–1424.

vonarx, J. (2008, 7 octobre). *Cyanobactéries et cyanotoxines*. Planet-Vie.

Vonshak A., 1986. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. In R. A. (Ed.), Handbook of microalgal mass culture (pp. 117–145). Boca Raton, FL: CRC Press.

Z

Zhang, X.-G., Liu, Z., Liu, J.-W., Zeng, Y.-L., Guo, G.-J., & Sun, Q.-Y. (2017). *Antitumor activity of a Rhodococcus sp. Lut0910 isolated from polluted soil*. *Tumour Biology*, *39*(6), 1010428317711661.

Zhou, W., Ding, D., Yang, Q., Ahmad, M., Zhang, Y.-Z., Lin, X.-C., Zhang, Y.-Y., Ling, J., & Dong, J.-D. (2018). *Marileptolyngbya sina* gen. nov., sp. nov. et *Salileptolyngbya diazotrophicum* gen. nov., sp. nov. (*Synechococcales*, Cyanobacteria), espèces de cyanobactéries isolées d'un écosystème marin. *Phytotaxa*, *383*(1), 75–92.

Zothanpuia, Passari, A. K., Chandra, P., Leo, V. V., Mishra, V. K., Kumar, B., ... & Singh, B. P. (2018). Bioprospecting of Actinobacteria from Indo-Burma Biodiversity Hotspot and their potential as a source of novel bioactive compounds. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 831.



Annexes



Annexe 1

La préparation des milieux de cultures utilisée

1) Milieu de culture" Zarrouk :

Le milieu de Zarrouk est une solution nutritive couramment utilisée pour la culture des cyanobactéries, notamment *Spirulina,* en raison de sa richesse en sels minéraux et en éléments essentiels. La composition standard de ce milieu, préparée pour 1 L, est présentée ci-dessous :

Tableau 1 : les composants de milieu Zarrouk

Eléments	La quantité
NAHCO3	**18g**
K2HPO4	**0.5g**
K2SO4	**1g**
NACL	**1g**
CACL2	**0.04g**
NA2 EDTA	**0.08g**
MG SO4	**0.2g**
FESO4	**0.01g**
NANO3	**2.5g**

- On a commencé premièrement par la mesure à l'aide d'une balance des produits chimiques nécessaires pour la préparation du milieu Zarrouk dans 1L d'eau distillée, puis on a mélangé tout avec un agitateur afin de les dissoudre.
- Après cela, nous ajoutons 1 ml de la solution des sels minéraux A qui se compose de plusieurs éléments (tableau 2) et on les mélange de la même manière précédente.

Tableau2 : les composants de solution des sels minéraux de milieu Zarrouk

Eléments	La quantité
$ZnSO_4$	**0.0011g**

$CuSO_4$	**0.0003g**

- Pour la solidification, on ajoute l'agar-agar
- Le milieu préparé doit être placé dans des flacons et stérilisé à l'autoclave pendant 20 minutes à 120°C



Figure 1 : milieu Zarrouk

2) Milieu de culture" BG-11 :

Le milieu de culture BG11 est un milieu nutritif largement utilisé pour la culture des cyanobactéries et de certaines micro algues, notamment *Anabaena* et *Synechococcus*. Il fournit les éléments nutritifs essentiels nécessaires à leur croissance dans des conditions de laboratoire .La composition standard de ce milieu, préparée pour 1 L, est présentée ci-dessous :

Tableau 3 :les composants de milieu BG-11

Eléments	La quantité
K2HPO4	**0.04 g**
MGSO4	**0.075 g**
CACL2	**0.036 g**
ACIDE SETRIQUE	**0.06 g**
EDTA	**0.001 g**
NA2CO3	**0.02 g**
NANO3	**0.15 g**

- On a commencé premièrement par la mesure à l'aide d'une balance des produits chimiques nécessaires pour la préparation du milieu BG-11 dans 1L d'eau distillée, puis on a mélangé tout avec un agitateur afin de les dissoudre
- Après cela, nous ajoutons 0.1 ml de la solution des sels minéraux A qui se compose de plusieurs éléments dans 1ml d'eau distillée (tableau 4) et on les mélange de la même manière précédente.

Tableau 4 : les composants de la solution des sels minéraux de milieu BG-11

Eléments	**La quantité**
ACIDE BURIQUE	**0.00286 g**
$ZnSO_4$	**0.220 g**
$CuSO_4$	**0.097 g**

- Pour la solidification, on ajoute l'agar-agar
- Le milieu préparé doit être placé dans des flacons et stérilisé à l'autoclave pendant 20 minutes à 120°C



Figure 2 :milieu BG-11

3) Milieu Muller-Hinton :

Le **milieu de culture Mueller-Hinton** est un **milieu nutritif standard** utilisé principalement en **microbiologie clinique,** notamment pour les **tests de sensibilité**

aux antibiotiques par la méthode de diffusion en disque (méthode de Kirby-Bauer).la préparation de ce milieu est Dissoudre 38 g de gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis autoclave pendant 20 minutes à 120°C.



Figure 3 : la préparation de milieu Muller-Hinton