



Université Mohamed Seddik Benyahia-Jijel
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de l'Environnement et
Sciences Agronomiques.

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل
كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم علوم المحيط و العلوم الزراعية

Mémoire

Présenté par :

MOUSSAOUI MOHAMED

Pour l'obtention du diplôme de

Magister

Filière : écologie végétale et environnement

Option : biodiversité et pathologie des écosystèmes

Thème

**Contribution à l'étude de l'élimination du chrome par des bactéries isolées de la
boue activée de la tannerie de Jijel**

Soutenu publiquement le 05/09/2015

devant le jury composé de :

Président : Mr LAHOUEL Mesbah	Professeur	Université de Jijel
Rapporteur : Mme OULED HADDAR Houria	Maitre de Conférences A	Université de Jijel
Examineurs: Mr LEGHOUCHI Essaid	Professeur	Université de Jijel
Mr IDOUI Tayeb	Maitre de Conférences A	Université de Jijel



Remerciements


Tout d'abord et Avant tout, Je remercie DIEU Le tout puissant qui m'a donné la force, la volonté, la patience et le courage pour accomplir ce modeste travail.

Je tiens à formuler ma gratitude et ma profonde reconnaissance à l'égard de ma famille qui m'a soutenue durant toutes ces longues années d'études.

Je remercie mon promoteur Mme OULED HADDAR Houria pour ses orientations et ses conseils et de m'avoir encadrée durant mon travail.

Je remercie les membres de jury qui ont accepté de juger mon travail.

A tous, un grand merci.



Sommaire

Sommaire	I
Liste des figures	III
Liste des tableaux.....	IV
Liste des abréviations.....	V
I Introduction générale	1
II Synthèse bibliographique.	
II.1 Mise en contexte :.....	2
II.1.1 Le contexte écologique et environnemental :.....	2
II.1.2 Le contexte socio-économique :.....	2
II.1.3 Le contexte réglementaire et législatif :.....	2
II.2 Pollution par les Métaux lourds:.....	3
II.2.1 Introduction :.....	3
II.2.2 Origines des métaux lourds :.....	3
II.2.3 Les métaux lourds essentiels et non essentiels :.....	4
II.2.4 Toxicité des métaux lourds :	4
II.2.4.1 Impacts sur l'environnement:.....	4
II.2.4.2 Impacts sur la santé humaine :	6
II.2.4.3 Impacts sur les microorganismes : Toxicité et tolérance	8
II.3 La dépollution de l'environnement, une nécessité incontournable:	9
II.4 La bioremediation, une technique efficace de dépollution :.....	10
II.5 Rôle des différents organismes vivants dans la dépollution de l'eau :	11
II.5.1 Les algues et les champignons.	11
II.5.2 Les plantes :.....	11
II.5.3 Les bactéries :.....	12
II.6 Les interactions bactéries-métaux lourds	12
II.7 Bioaccumulation et biosorption microbienne :.....	13
II.8 Sources du chrome et bioremediation	14
II.8.1 Les sources de contamination par le chrome :	14
II.8.2 Toxicité du chrome.....	15
II.8.3 La réglementation :.....	17
II.8.4 Résistance et réduction microbienne du Cr (VI) :.....	17
II.8.5 Bioremediation du Cr (VI) :.....	18
III Matériel et Méthodes	21

III.1	Matériel:.....	21
III.1.1	Matériel biologique:	21
III.1.2	Le Dichromate de potassium :.....	21
III.1.3	Milieux de culture :	21
III.2	Méthodes:	21
III.2.1	Choix du site de prélèvement :.....	21
III.2.2	Echantillon de boue d'épuration des effluents de la tannerie de Jijel :	22
III.2.3	Enrichissement et isolement des souches bactériennes:.....	22
III.2.4	Préparation de la solution mère du chrome hexavalent :	22
III.2.5	Préparation de l'inoculum bactérien :	22
III.2.6	Réalisation d'une courbe d'étalonnage pour la quantification des cellules par spectrophotométrie :.....	22
III.2.7	Screening et sélection des souches résistantes au chrome (VI) :	23
III.2.8	Caractérisation morphologique et biochimique des souches sélectionnées pour l'étude	23
III.2.9	Identification moléculaire des souches sélectionnées:.....	24
III.2.10	Effet du chrome sur la croissance bactérienne :.....	25
III.2.11	Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI :	25
III.2.12	Test d'élimination du chrome par les souches (A1-1, A1-4 et A3-1) :.....	25
III.2.13	Application des souches dans le traitement des eaux usées de la tannerie	26
III.2.14	L'analyse statistique des données :.....	26
IV	Résultats et Discussion	27
IV.1	Screening et sélection des souches résistantes au chrome(VI) :.....	27
IV.2	Caractérisation morphologique et biochimique des souches :.....	29
IV.3	Caractérisation moléculaire des deux souches A1-1 et A3-1 :.....	31
IV.4	Effet du chrome sur la croissance bactérienne :	32
IV.5	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :.....	35
IV.6	Analyse de la réduction du chrome dans le bouillon nutritif :.....	36
IV.7	Application des souches dans le traitement des eaux usées de la tannerie de Jijel :.....	39
V	Conclusion	41
VI	Références bibliographique	42

Annexes

Liste des figures

Figure 1: Les voies de contamination des aliments par les métaux.	5
Figure 2: La répartition des métaux lourds dans le corps humain.....	7
Figure 3: Pourcentage d'utilisation des différentes méthodes d'épuration	9
Figure 4: Mécanismes de résistance aux métaux, développés par divers micro-organismes...	10
Figure 5: Schéma des interactions entre métaux et bactéries	13
Figure 6: Cinétique de croissance bactérienne constituée de 05 souches, dans du bouillon nutritif additionné de 40 mg/l de Cr (VI) et incubées à 37 C ⁰	28
Figure 7: Cinétique de croissance bactérienne constituée de 05 autres souches, isolées des boues d'épuration de la tannerie de Jijel, dans du bouillon nutritif additionné de 40 mg/l de Cr (VI) et incubées à 37 C ⁰	28
Figure 8: Relation phylogénétique des séquences de <i>Bacillus sp.</i> A1-1 et <i>Bacillus megaterium</i> A3-1 avec les séquences de l'ADNr 16S des 22 bactéries les plus similaires.	32
Figure 9: Effet du chrome (40 mg/l) sur la croissance des 3 souches sélectionnées, dans du bouillon nutritif et incubées à 37 C ⁰ . (a) Souche <i>Bacillus.sp</i> A1-1, (b) Souche A1-4, (c) Souche <i>Bacillus megaterium</i> A3-1.....	34
Figure 10: Evolution de la concentration du chrome dans le temps, incubé à 37 C ⁰ sous agitation, dans du bouillon nutritif avec un inoculum de 2% pour chaque souche.....	37
Figure 11: Evolution du taux d'élimination du chrome dans le temps.	38

Liste des tableaux

Tableau 1: Sources anthropogéniques de quelques métaux lourds.	4
Tableau 2 : Le taux de croissance des dix souches isolées des boues de la tannerie de Jijel, dans du bouillon nutritif additionné de 40 mg/l de Cr (VI) et incubées à 37 C ⁰	27
Tableau 3: Caractères biochimiques et morphologiques des cultures étudiées.	30
Tableau 4: Le taux de croissance des trois cultures avec et sans chrome en fonction du temps.	34
Tableau 5: Valeurs de la densité optique (DO) mesuré à 600nm pour les cultures A01-01, A03-01 et A01-04 (test de la CMI)	36
Tableau 6: Evolution des concentrations du chrome en milieu nutritif pour chaque souche.	37
Tableau 7: Effet de la bioaugmentation par la culture mixte (A1-1, A1-4 et A3-1) sur la réduction du taux de chrome dans l'effluent industriel de la tannerie.	40

Liste des abréviations

ENL	Entreprise Nationale de Liège
METOX	Métaux toxique
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ROS	réactive oxygen specis
MeHg	Méthylmercure
γ -HCH	Hexachlorocyclohexane
Cr (VI)	Chrome hexavalent
Cr ₄ O ₂	Dichromate de potassium
US-EPA	US Environmental Protection Agency
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
BN	Bouillon Nutritif
GN	Gélose Nutritive
MEVAG	Milieu d'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides
TSI	Triple Sugar Iron
ADH	Arginine Dihydrolase
ODC	Ornithine Décarboxylase
LDC	Lysine Décarboxylase
Rpm	Rotation per minute
SAA	Spectrophotométrie d'Absorption Atomique

Introduction

I Introduction générale

Les progrès technologiques et l'industrialisation accélérés qu'a connu le monde depuis le XIXe siècle, ont conduit à l'apparition de problèmes écologiques nouveaux de plus en plus graves. Le rejet massif et brutal de polluants toxiques dans l'environnement, constitue un risque écologique important pour la faune et la flore, ainsi qu'un danger réel pour la santé de l'homme. La dégradation de l'environnement due à la pollution, est générale et concerne tous les milieux (air, eau et sol).

L'équilibre des écosystèmes est devenu menacé, le recyclage naturel des déchets produit par l'homme est de moins en moins efficace. Face à cette problématique, les chercheurs tentent de trouver des solutions pour dépolluer l'environnement. Une gamme importante de technologies physico-chimiques est disponible pour décontaminer l'environnement. Ces traitements, souvent très coûteux, induisent d'importantes modifications des milieux ; ce qui a incité à développer des méthodes biologiques curatives (**Machado et al, 2010; Chaillou et Combrisson 2013**).

L'action des micro-organismes dans le recyclage des éléments, est une constatation ancienne, mais l'importance de ce rôle dans la dépollution de l'environnement, n'est réellement apparue qu'au début du XXe siècle. La biodépollution ou bioremédiation est l'utilisation des micro-organismes tels que les champignons et les bactéries, pour éliminer les polluants toxiques de l'environnement. Le métabolisme microbien étant souvent limité par des facteurs environnementaux, l'objectif de la biodépollution est d'optimiser ces facteurs afin d'augmenter la densité et l'activité des populations microbiennes pour accélérer la décontamination des sites pollués (**Chaillou et Combrisson, 2013**).

La préservation du patrimoine naturel de notre ville, est la responsabilité de chaque citoyen, et toute action pouvant contribuer à cet effet serait d'une grande importance ; c'est dans cette logique que notre thématique de recherche a été adoptée. Ce travail pourrait intéresser les industriels et les inciter à s'investir dans ce domaine de recherche, il pourrait être très prometteur en matière de réduction de la pollution. Rappelons que la réglementation algérienne impose ces mesures en plus des taxes à payer pour leurs rejets.

Tout en suivant une démarche scientifique, logique et cohérente, l'objectif de notre travail était de parvenir à isoler des souches bactériennes, capables de réduire les concentrations en chrome, dans les effluents industriels. Notre approche a été totalement réalisée au laboratoire. Les résultats de notre étude peuvent avoir des applications industrielles dans le domaine des biotechnologies. Nous avons choisi de travailler sur le chrome, vu son intérêt dans l'industrie locale du cuir (tannerie de Jijel) et sa toxicité relative par rapport aux autres métaux.

Synthèse
Bibliographique

II Synthèse bibliographique

II.1 Mise en contexte

II.1.1 Le contexte écologique et environnemental

De par son cadre géographique, son patrimoine matériel et immatériel, ses traditions et sa culture, la wilaya de Jijel pourrait connaître un développement très important, à travers sa promotion comme pôle de développement, d'attraction nationale, pour le tourisme écologique durable. A cet effet, il faut bien valoriser ses potentialités naturelles et les préserver, ainsi, il faut protéger ses écosystèmes fragiles et réduire la pollution de l'environnement par tous les moyens possibles.

II.1.2 Le contexte socio-économique

La wilaya de Jijel ne connaît pas une grande activité économique, les activités industrielles ne sont pas nombreuses, il existe quelques anciennes installations (tannerie et l'ENL), qui représentent une source de revenus pour nombreuse familles. Avec l'urbanisation leur localisation est devenue inadéquate à l'intérieure de la ville (**Direction de l'Urbanisme de Jijel**). De ce fait, si ces installations ne sont pas délocalisées, il est néanmoins nécessaire de réduire l'impacte de leurs rejets polluants dans l'environnement, d'où l'intérêt de notre travail.

II.1.3 Le contexte réglementaire et législatif

Le droit de l'Homme et du citoyen à l'environnement est reconnu d'intérêt général. A cet effet, la sauvegarde des sites et des monuments naturels, des antiquités, des paysages, la préservation des espèces animales et végétales, le maintien des équilibres biologiques, la protection des ressources naturelles, la lutte contre toutes les formes de pollution et de nuisance, la préservation des ressources hydrauliques et du littoral marin et fluvial, le contrôle de l'urbanisation sont d'intérêt général.

La loi n° 03-10 du 19 juillet 2003 relative à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable a pour objectif de fixer les principes fondamentaux et les règles de gestion de l'environnement afin de promouvoir un développement national durable en améliorant les conditions de vie et en œuvrant à garantir un cadre de vie sain.

Un certain nombre d'activités (dites classées) qui par leurs incidences directs ou indirects sur l'environnement et notamment sur les espèces, les ressources naturelles et la qualité de vie, sont soumises à une réglementation spécifique, leur imposant des études d'impact et de danger, afin d'obtenir les autorisations nécessaires d'exercer légalement ce type d'activité, et fixant des valeurs limites à leurs rejets et les oblige ainsi à utiliser les technologies les moins polluantes même à coût plus élevé selon le principe de substitution de l'article 2 de la loi su-cité . Le décret

exécutif n° 07-144 du 19 mai 2007 fixe la nomenclature des installations classées, et le Décret exécutif n° 06-141 du 19 avril 2006 définit les valeurs limites des rejets d'effluents liquides industriels (**Source : Journal Officiel de la République Algérienne**).

II.2 Pollution par les Métaux lourds

II.2.1 Introduction

Le problème de la pollution par les métaux lourds est devenu de plus en plus grave avec l'industrialisation croissante : ce qui a provoqué la perturbation des cycles biogéochimiques naturels. Contrairement aux substances organiques, les métaux lourds sont généralement non biodégradables et s'accumulent dans l'environnement. L'accumulation de ces métaux dans les sols et les eaux constitue un risque important pour la santé humaine et environnementale. Ces éléments s'accumulent dans les tissus des organismes vivants (bioaccumulation) et leurs concentrations augmentent lors de leur passage d'un niveau trophique inférieur à un niveau trophique supérieur à travers les chaînes alimentaires (phénomène connu sous le nom de bioamplification). Dans le sol, les métaux lourds provoquent des effets toxiques sur la faune microbienne du sol, ce qui réduit leur nombre et de ce fait leurs activités dans le sol (**Khan et al, 2010**).

Le terme de métaux lourds est utilisé pour désigner des éléments chimiques, ayant des propriétés métalliques tel que: la conductivité, la ductilité, une densité supérieure à 5g/cm^3 et un numéro atomique 20 (**Aoun, 2008**). Cette appellation regroupe des éléments qui sont effectivement des métaux tels que Ni, Cu, Zn, Pb, Hg, Al...et aussi des métalloïdes tels que As et Se. C'est pourquoi une classification plus complexe, basée sur les propriétés de formation de ligands a été proposée par **Nieboer et Richardson (1980)**, avec la dénomination d'Eléments-Traces Métalliques, préférée par certains chercheurs.

Duffus (2002), conclue que cette classification en fonction des propriétés chimiques, est la plus pertinente. Elle permet de renseigner sur la toxicité biochimique des métaux, et de déterminer quelles espèces métalliques ou composés ioniques, sont susceptibles d'être les plus toxiques (**Duffus, 2002**).

II.2.2 Origine des métaux lourds

Les métaux lourds rejoignent l'environnement à partir de sources naturelles et anthropique. Les Roches et les sols sont les principales sources naturelles de métaux lourds dans l'environnement, par altération physique et chimique des minéraux, avec les facteurs de l'érosion et des activités volcaniques (**Bradl, 2005**). Pour les sources anthropiques on peut citer les activités minières, les fonderies, de la galvanoplastie, l'utilisation des pesticides et des engrais phosphatés

ainsi que les biosolides en agriculture, boues d'épuration, les rejets industriels et les dépôts atmosphériques, etc (Wuana et Okieimen, 2011).

Tableau 01: Sources anthropogéniques de quelques métaux lourds (Hazrat et al, 2013).

Métaux lourds	Sources
As	pesticides et préservation du bois
Cd	peinture et pigment, stabilisants de plastique, fertilisants phosphatés...etc.
Cr	tanneries, industrie textile, pesticides, fertilisants...etc.
Cu	pesticides, fertilisants
Hg	combustion de charbon, déchets médicaux, activités minières
Ni	effluents industriels, instruments chirurgicaux, batteries d'automobile
Pb	combustion de carburant à plomb, batteries, herbicides et insecticides

II.2.3 Les métaux lourds essentiels et non essentiels

Selon leur rôle dans les systèmes biologiques, les métaux lourds sont classés en deux catégories : les métaux lourds essentiels (oligoéléments) et les métaux lourds non essentiels. Les premiers sont ceux dont les organismes vivants en ont besoin en petites quantités, pour leurs fonctions physiologiques et biochimiques vitales. On peut citer par exemple : Fe, Mn, Cu, Zn et Ni (Göhre et Paszkowski, 2006). La deuxième, celle des métaux non-essentiels, elle regroupe les métaux qui ne sont pas utilisés par les organismes vivants dans leur processus vital, comme le: Cd, Pb, As, Hg et Cr (Dabonne et al, 2010).

II.2.4 Toxicité des métaux lourds

Des concentrations élevées en métaux lourds, dépassant les seuils limites tolérables, peuvent provoquer des effets néfastes sur la santé et perturber le fonctionnement normal des systèmes vivants (Rodrigues et al, 2012).

II.2.4.1 Impacts sur l'environnement

La présence des métaux lourds dans l'air, le sol et l'eau représente une menace pour l'environnement et la santé humaine. Les principales menaces des métaux lourds sur la santé humaine sont associées à l'exposition au Pb, Cd, Hg et l'As. Ces métaux ont été largement étudiés et leurs effets sur la santé humaine sont revus régulièrement par des organisations internationales telles que l'OMS (Ghosh, 2010).

En plus de leur toxicité, les métaux lourds ont un long temps de séjour dans l'environnement, une longue demi-vie biologique, en particulier le cadmium, qui constitue un problème majeur dans les pays industrialisés. Ils présentent un risque pour la santé publique, car ces derniers finissent par se retrouver dans nos aliments de consommation (**figure 1**). D'autre part, l'introduction des métaux lourds, sous diverses formes dans l'environnement, peut produire des modifications considérables dans les communautés microbiennes et leurs activités (**Nithya et al, 2011**).

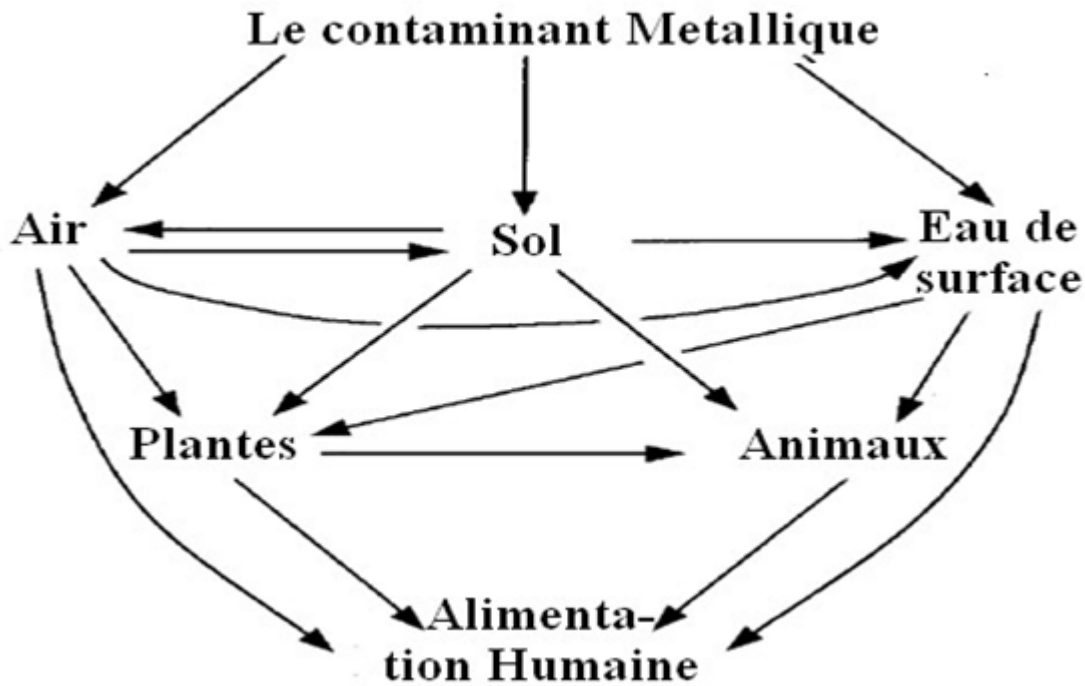


Figure 01: Les voies de contamination des aliments par les métaux (**Adriano et al, 2001**).

a) Les métaux lourds dans l'eau

L'eau transporte les métaux lourds et les insère dans les chaînes alimentaires. Même si ces derniers sont le plus souvent présents à l'état de traces, leur toxicité se développe par bioaccumulation dans les tissus vivants. Les métaux lourds dispersés sont immobilisés par adsorption sur les minéraux argileux et hydroxydes de Fe et Mn ou absorbés par les algues à un niveau trophique inférieur dans la chaîne alimentaire. Ces métaux lourds peuvent s'accumuler dans des niveaux supérieurs dans les chaînes alimentaires et provoquent des dommages (**Kaimoussi et al, 2005**).

b) Les métaux lourds dans le sol

La contamination des sols par les métaux lourds est un grand problème environnemental dans le monde, cette contamination présente des risques considérables pour la santé publique et les

écosystèmes (**Sheng et al, 2008**). Ils peuvent avoir des effets importants sur les populations microbiennes indigènes. Ils peuvent réduire la biodiversité microbienne, limiter leur reproduction, et leur activité comme la fixation de l'azote dans les rhizobiums. Chaque métal a des bio-fonctions uniques ou bio-toxicités. Par exemple, le cuivre peut faire augmenter la croissance microbienne à faibles concentrations mais à fortes concentrations, il l'inhibe. En revanche, le cadmium a une toxicité élevée même à faible concentration (**Gehong et al, 2009**).

La contamination des sols agricoles par les métaux lourds est devenue très sérieuse, ils sont considérés comme des polluants du sol en raison de leur présence répandue, et de leurs effets toxiques aigus et chroniques sur les plantes cultivées. La limite réglementaire de cadmium (Cd) dans les sols agricoles est de 100 mg / kg. Mais ce seuil est dépassé en permanence en raison de diverses activités humaines. Les plantes exposées à des niveaux élevés de cadmium réduisent leur activité photosynthétique, l'absorption d'eau, et l'absorption de nutriments. Les plantes cultivées dans un sol contenant des niveaux élevés de cadmium présentent des symptômes visibles de blessures se traduisant par des chloroses, inhibition de la croissance, le brunissement des racines, et finalement la mort (**Yadav, 2010**).

II.2.4.2 Impacts sur la santé humaine

Les métaux lourds ont des effets néfastes sur la santé humaine et la contamination des chaînes alimentaires par les métaux lourds mérite une attention particulière. De nombreux métaux lourds et métalloïdes sont toxiques et peuvent provoquer des effets indésirables et des problèmes sévères pour l'homme, même à de très faibles concentrations (**Memon et Schröder, 2009**). Les métaux lourds induisent un stress oxydatif par la formation de radicaux libres. Le stress oxydatif se traduit ainsi par la production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui peut perturber l'équilibre intrinsèque de la balance prooxydant/antioxydante des cellules et peut provoquer des dommages aux cellules en conduisant à la mort cellulaire (**Sánchez-Chardi et al, 2009**).

D'un point de vue toxicologique, les métaux les plus toxiques sont : Hg, Cd, Pb, As, Cu, Zn, Sn, et le Cr. La toxicité des métaux varie aussi selon la dose et la durée d'exposition. Une exposition de courte durée à des concentrations élevées cause des syndromes aigus, alors qu'une exposition de longues durées à de faibles concentrations, provoque des troubles chroniques. La gastroentérite, la pneumonie et l'insuffisance rénale et hépatique sont les troubles les plus fréquemment observés en cas d'exposition de longue durée à un certain nombre de métaux (cadmium, cuivre, plomb, zinc). L'exposition à des métaux pourrait également causer le cancer (**Naithani et Kakkar, 2005**).

Les facteurs influençant la toxicité, sont soit liés au contaminant (facteurs extrinsèques) tels que la nature du métal, la spéciation chimique, l'organotropisme, la biodisponibilité, etc. qui

peuvent ainsi agir, en se liant à des groupements thiols ce qui peut conduire au blocage des groupes fonctionnels des molécules importantes telles que les enzymes, et les polynucléotides, ils peuvent également se substituer aux métaux essentiels. Soit ces facteurs sont liée à l'individu (facteurs intrinsèques) comme : l'âge, le sexe, l'état nutritionnel, les conditions d'expositions et la variabilité génétique. L'ensemble de ces facteurs peut influencer sur la charge corporelle d'un métal, sa distribution tissulaire et ses effets nocifs (**figure 02**) (Naithani et Kakkar, 2005).

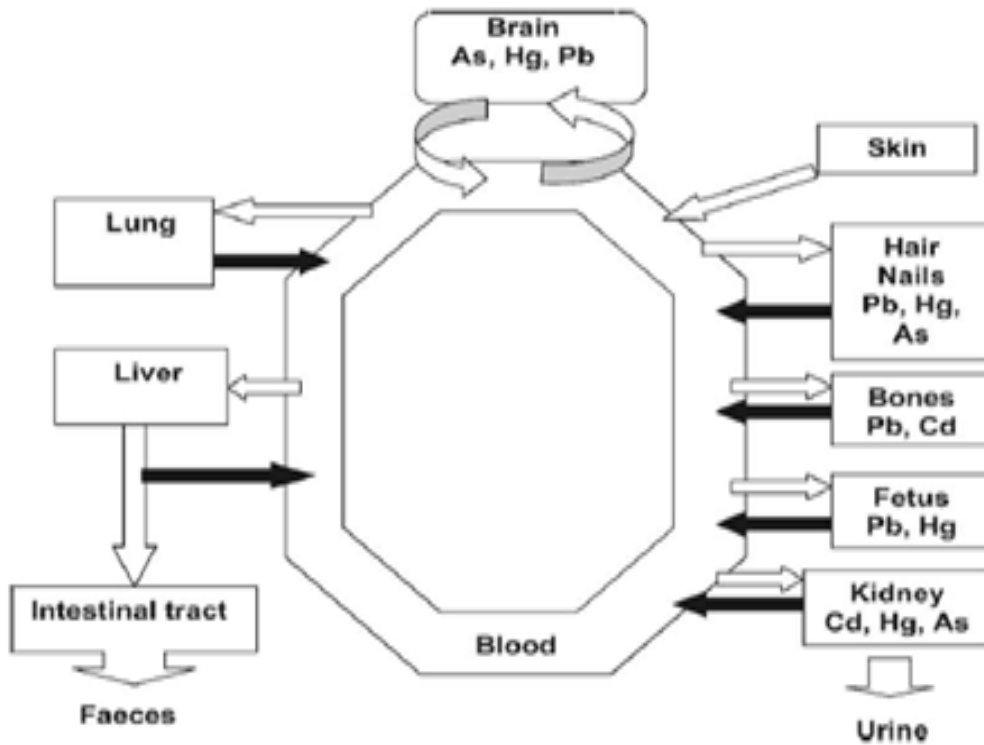


Figure 02: La répartition des métaux lourds dans le corps humain (Naithani et Kakkar, 2005).

Le cadmium, le plomb et le mercure (méthylmercure, MeHg), sont des polluants particulièrement visés, à cause de leur large distribution et leurs actions profondes sur la santé humaine (Islam et al, 2007; Mergler et al, 2007). L'intoxication au cadmium, chez la femme enceinte, réduit la durée de la grossesse, le poids du nouveau-né et provoque un dysfonctionnement du système endocrinien et/ou immunitaire chez l'enfant. L'exposition au plomb, induit un retard dans le développement neurocomportemental, (Lidsky et Schneider, 2003), tout comme le MeHg qui perturbe le développement normal et induit des effets nuisibles allant de la mort fœtale au retard du développement cognitif (Castoldi et al, 2003).

Les métaux lourds peuvent entraîner chez l'Homme des pathologies qui peuvent toucher son intégrité physique et mentale. Il devient alors incapable de réagir et de s'adapter aux diverses situations. Les métaux lourds s'accumulent au sein de l'organisme et perturbent son organisation

interne. Certains d'entre eux, ont des effets tératogènes et d'autres peuvent entraîner des troubles de la fécondité, en conséquence le fonctionnement fondamental et vitale de l'Homme est mis en danger (Sisca et al, 2009).

II.2.4.3 Impacts sur les microorganismes : Toxicité et tolérance

Les bactéries, aussi bien que les virus peuvent subir les effets des métaux lourds. Une substance est dite toxique lorsqu'une fois mise en contact avec un organisme vivant, engendre une réaction spécifique ou un stress perturbant les fonctions physiologiques de l'organisme, accompagné d'effets néfastes touchant même leur descendance. Dans la littérature scientifique courante, relative à la croissance des microorganismes en présence de métaux lourds, on parle souvent de tolérance ou de résistance (Wright et Welbourn, 2002).

Gadd (1992) définit la tolérance comme la capacité de faire face à la toxicité des métaux aux moyens des propriétés intrinsèques des organismes. En parallèle, il décrit la résistance comme la capacité à survivre aux métaux toxiques par des mécanismes de détoxification en réponse directe à la présence de métaux dans l'environnement. La dispersion des métaux suite aux événements géologiques, a fait qu'une résistance aux ions métalliques s'est développée chez les bactéries par le phénomène d'évolution (Hobman et al, 2007).

Les métaux qui n'ont pas de fonction biologique sont généralement tolérés à faibles concentrations, alors que les métaux essentiels sont acceptés à plus forte concentration (Bruins et al, 2000). Ces derniers participent au fonctionnement métabolique des cellules en tant que constituants d'enzymes ou constituants structurels (exemple de la membrane). La concentration et la spéciation du métal déterminent si celui-ci est utile ou nocif à la cellule. Le contrôle des concentrations internes, ou homéostasie, s'avère donc nécessaire. C'est pourquoi les bactéries ont développé différentes stratégies de défense pour se protéger contre la toxicité des métaux. De nombreuses bactéries sont désormais connues pour leur capacité à excréter les métaux par des systèmes d'efflux. Ces types de transporteurs se caractérisent par une forte affinité au substrat et permettent de maintenir de faibles concentrations métalliques dans le cytosol (Nies, 2003). Si les métaux toxiques entrent à l'intérieur de la cellule et ne sont pas excrétés par les systèmes d'efflux, un autre mécanisme de séquestration cytosolique intervient pour les protéger. Il a été démontré que chez beaucoup d'organismes résistants aux métaux, il existe des composés internes comme, les granules de polyphosphates ou des groupements thiols (contenant du soufre), capables de séquestrer de grandes quantités de cations métalliques (Gadd et Smith, 2000; Pagès et al, 2007).

La bioaccumulation des métaux lourds et leur stockage ultérieur dans la cellule sous forme inerte permet à la cellule de diminuer leur toxicité (Sarret et al, 2005). Malgré la présence d'ions

toxiques, certains microorganismes sont capables de survivre dans des milieux pollués. Cette capacité peut être le résultat de mécanismes induits ou intrinsèques aux individus (**Gadd, 1992**).

Les algues sont aussi des micro-organismes qui jouent un rôle important dans le fonctionnement et l'équilibre de tous les écosystèmes aquatiques. Elles sont impliquées également de manière non négligeable dans les activités économiques de certains pays (**Kaimoussi et al, 2005**). De nombreuses études sur les eaux polluées par les métaux lourds, ont révélé que la pollution par les métaux lourds diminue la diversité, la productivité et modifie la composition des espèces d'algues. Cependant, il y a aussi de nombreux rapports concernant, des espèces de cyanobactéries et les algues filamenteuses qui sont tolérants ou résistants au Cd, Cu, Pb et Zn (**Pawlik-Skowron'ska, 2001**).

II.3 La dépollution de l'environnement, une nécessité incontournable

La dépollution de l'environnement est un problème complexe et difficile à résoudre ; les chercheurs étudient la question et proposent en permanence des solutions techniques à ce problème. Chaque technique dispose d'avantages et d'inconvénients en termes de temps, de coût, et de faisabilité. Chaque type de pollution est un cas particulier, le choix de la méthode optimale à adopter ; émerge d'une combinaison des différentes méthodes en tenant compte des caractéristiques physico-chimiques, biologiques et hydrogéologiques du site à dépolluer (**Fornarini et al, 2005**).

Les techniques traditionnelles d'élimination des métaux lourds tels que la précipitation chimique, traitement électrochimique, procédés membranaires et l'échange d'ions sont extrêmement coûteuses ou inefficaces, en particulier pour les grands volumes de solution et à des concentrations en métaux lourds relativement faibles. Au cours des dernières années, une grande attention a été accordée à la bioremédiation des métaux lourds (**figure 03**) (**Teemu et al, 2008; Zakhama et al, 2011**).

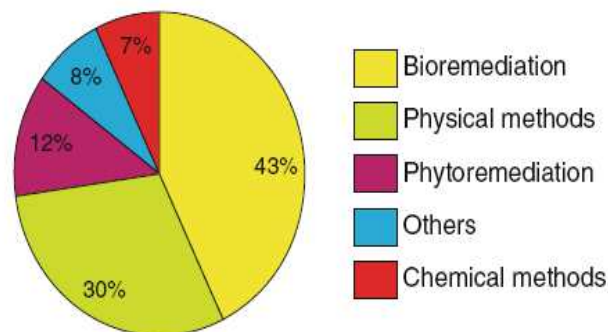


Figure 03: Pourcentage d'utilisation des différentes méthodes d'épuration (**Pandey et al, 2009**)

II.4 La bioremediation, une technique efficace de dépollution :

L'utilisation de micro-organismes dans la détoxification et l'élimination des polluants, principalement ceux du sol, de l'eau, et des sédiments, qui constituent un risque pour la santé publique, est connue sous le nom de bioremédiation (Talley, 2005; Wasi et al, 2008). La bioremediation est utilisée comme une stratégie utilisant des microorganismes pour transformer complètement des polluants organiques tels que les pesticides, en composés non nocifs comme le H₂O et le CO₂. De la même façon, les microorganismes peuvent transformer les polluants inorganiques, pas forcément de façon complète mais en contribuant à réduire leur solubilité, mobilité et finalement leur toxicité (Kamaludeen et al, 2003).

L'interaction des micro-organismes avec les métaux lourds et leur application dans la détoxification et la bioremediation de ces derniers a déjà été traitée de façon exhaustive, (Gavrilescu, 2004 ; Wasi et al, 2011). Les microorganismes sont dotés de capacité à éliminer, à immobiliser et à détoxifier les métaux lourds ainsi que les radionucléides par différents mécanismes, (Ji et Silver, 1995). La détoxification des métaux lourds par les microbes est attribuée à un certain nombre de processus incluant : l'oxydation, la réduction, la complexation, la méthylation et les réactions impliquant des biosurfactants (Alam et Ahmad, 2011).

En réponse à la toxicité des métaux, beaucoup de microorganismes ont développé des mécanismes particuliers de détoxification et de résistance aux métaux toxiques (Wasi et al, 2008). Ces mécanismes de résistance peuvent être intracellulaires ou extra cellulaires, spécifiques à des métaux particuliers ou généraux pour une large gamme de métaux lourds (figure 04).

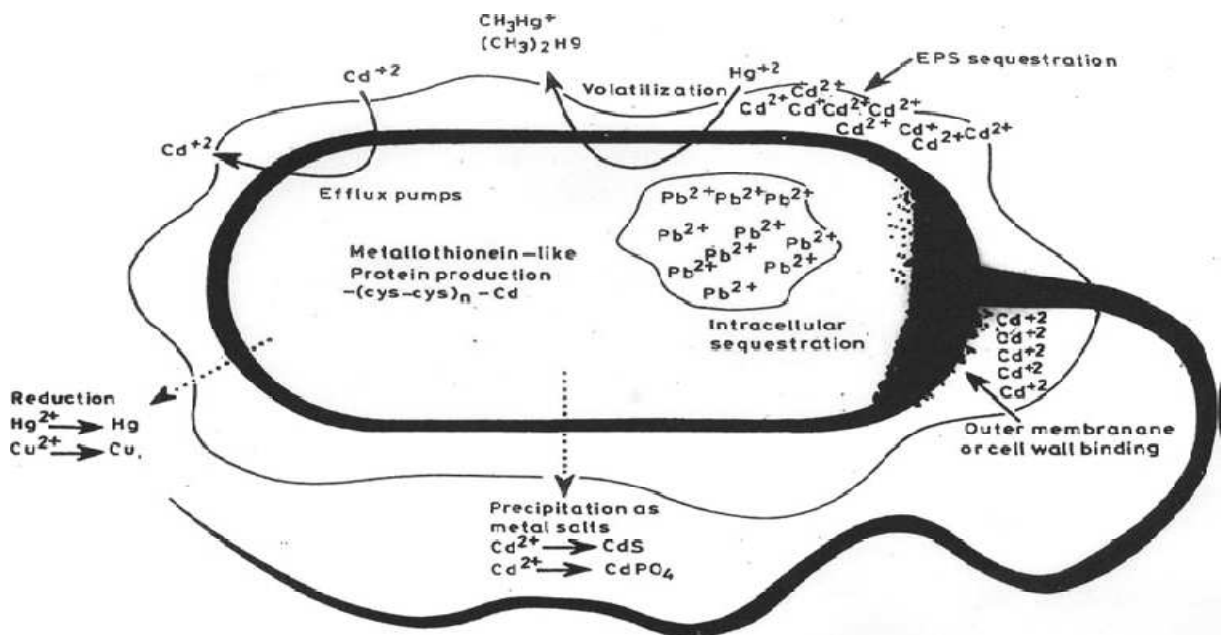


Figure 4: les mécanismes de résistance aux métaux, développés par divers micro-organismes,

EPS : exo-polysaccharide (Roane et Pepper, 2000).

L'application de communautés microbiennes à grande échelle dans l'élimination des métaux lourds et le traitement des déchets ménagers et industriels est bien connue (**Brar et al, 2006; Gadd, 2010**). Dans ce contexte (**Markandey et al, 2002**) ont étudié l'efficacité de la bioremediation dans l'élimination du Cr et du Pb. La bioremediation offre une alternative potentielle aux méthodes existantes pour la désintoxication et de la récupération des métaux toxiques (**Fisher et Froid, 1980**). C'est la méthode la plus efficace et la moins coûteuse pour le traitement des sites contaminés par les métaux lourds. Certains rapports ont montré que les microbes indigènes et les symbiotes plantes-microorganismes tolèrent des concentrations élevées de métaux lourds de différentes manières (**Paul et al, 2005**).

II.5 Rôle des différents organismes vivants dans la dépollution de l'eau

Il existe une variété de mécanismes adoptés par les bactéries, champignons, ciliés, algues, mousses, macrophytes et plantes supérieures, dans l'élimination des métaux lourds, dans les solutions aqueuses, (**Rehman et al, 2007**). Ce qui suit donne un aperçu global des différents organismes vivants utilisés dans la détoxification de l'eau, de la majeure partie des polluants.

II.5.1 Les algues et les champignons

Parmi les algues vertes, le genre *Chlorella* a été cité comme le candidat potentiel pour la biosorption des métaux (**Doshi et al, 2008**). **Gale (1986)** rapporte que les fleurs de *Chlorella*, *Cladophora*, *Rhizoclonium*, *Hydrodictyon*, *Spirogyra*, et *Oscillatoria* possèdent des capacités à éliminer le Pb. **Tsuji et al (2002)** ont démontré que la synthèse des phytochélatines d'une algue marine, *Dunalliella tertiolecta*, est fortement induite par le Zn. Le prétraitement des cellules avec le Zn améliorerait la capacité à tolérer l'action toxique des métaux lourds tels que le Cd, Hg, Cu, et Pb. Une diatomée marine *Skeletonema costatum* a été rapportée comme étant capable de dégrader le 2,4-dichlorophénol (**Yang et al, 2002**).

De même **Scarano et Morelli (2002)**, ont mentionné que l'Algue brune *Fucus serratus* est capable d'accumuler l'arséniate facilement et de le transformer en plusieurs composés de l'arsenic en fonction de la concentration d'exposition. Par ailleurs, plusieurs groupes de chercheurs ont étudié la possibilité de réduire la toxicité de plusieurs composés aromatiques (e.g. pesticides, phénols, hydrocarbures polycycliques, etc) dans des environnements pollués en utilisant des champignons (**Fountoulakis et al, 2002; Bamforth et Singleton, 2005**).

II.5.2 Les plantes

La biodégradation des xénobiotiques organiques par les plantes a été rapportée par **Abhilash et al (2009)**, qui ont décrit les voies de détoxification opérant dans les plantes et leur rôle dans l'assainissement de la biosphère. En outre, **Greenan (2011)** a suggéré les rôles des phytochélatines

et les métallothionéines dans la désintoxication des métaux lourds et de l'homéostasie. Les plantes sont capables d'engager des processus de désintoxication dans l'air, l'eau et le sol (**Henderson et al, 2007; Sanz et al, 2009**).

II.5.3 Les bactéries

Le rôle des bactéries dans la biodégradation et la détoxification des substances toxiques est bien connu (**Johri et al, 1996**). **Matsumura et al (1976)** sont les premiers à avoir rapporté des informations sur la dégradation aérobie de l'HCH, un pesticide persistant, par une souche de *Pseudomonas*. Plus tard, sa dégradation par une *Pseudomonas paucimobilis* a été également rapportée par **Wada et al (1989)**. Le rôle des *Pseudomonas* dans la biodégradation des γ -HCH est bien établi, (**Nawaz et al, 2011**). Les bactéries impliquées dans le métabolisme du 2,4-D (l'acide 2,4 dichlorophénoxyacétique) et ses autres dérivés ont été largement étudiés par plusieurs chercheurs (**Cho et al, 2002**).

La biodégradation des pesticides carbamates par différentes bactéries a été rapportée par plusieurs chercheurs (**Barragán-Huerta et al, 2007**). **Roane et Pepper (2000)** parlent de la désintoxication du Cd par *Arthrobacter*, *Bacillus* ou *Pseudomonas spp*. La résistance au cadmium avec une probable capacité de désintoxication par *P. putida* a également été signalée par **Lee et al (2001)**. De plus, **Wang et al, (1997)** parlent de l'utilisation de *P. aeruginosa* pour l'élimination du cadmium.

Saxena et al (2001) ont isolé d'une mines de cuivre une souche (*P. putida*) capable de précipiter le cuivre, elle serait donc un candidat intéressant pour la bioremédiation du cuivre. La désintoxication des phénols par *P. putida* et *Comamonas sp.* est citée par **Basha et al (2010)**. De même, **Kumar et al (2005)** ont démontré la dégradation de catéchol (1,2-dihydroxybenzene) en utilisant une souche de *P. putida* et la dégradation du p-crésol (trois isomères du méthylphénol ($\text{CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4\text{OH}$)) par une *Pseudomonas.sp* immobilisée (**Wasi et al, 2013**).

II.6 Les interactions bactéries-métaux lourds

Les microorganismes, en particulier les bactéries, peuvent interagir avec les métaux via différents mécanismes (**Ledin, 2000**). On peut observer une transformation des métaux par des processus d'oxydation/réduction ou d'alkylation. Ces transformations modifient généralement la toxicité et la mobilité du métal. Les métaux peuvent également être accumulés par des phénomènes d'adsorption passive (indépendant du métabolisme) ou par transport actif à l'intérieur de la cellule (dépendant du métabolisme). La production par les microorganismes de substances telles que les composés organiques ou les sulfides a été également observé. En plus, de leur participation aux cycles biogéochimiques, les microorganismes modifient les caractéristiques de la matière organique

dans l'environnement ; ce qui peut modifier le comportement des métaux via des mécanismes de chélation ou complexation (**Figure 5**), (**Haferburg et Kothe, 2007**). Enfin les bactéries peuvent influencer de manière indirecte la mobilité des métaux par des modifications dans le milieu, par acidification par exemple (**Chang, 1997**).

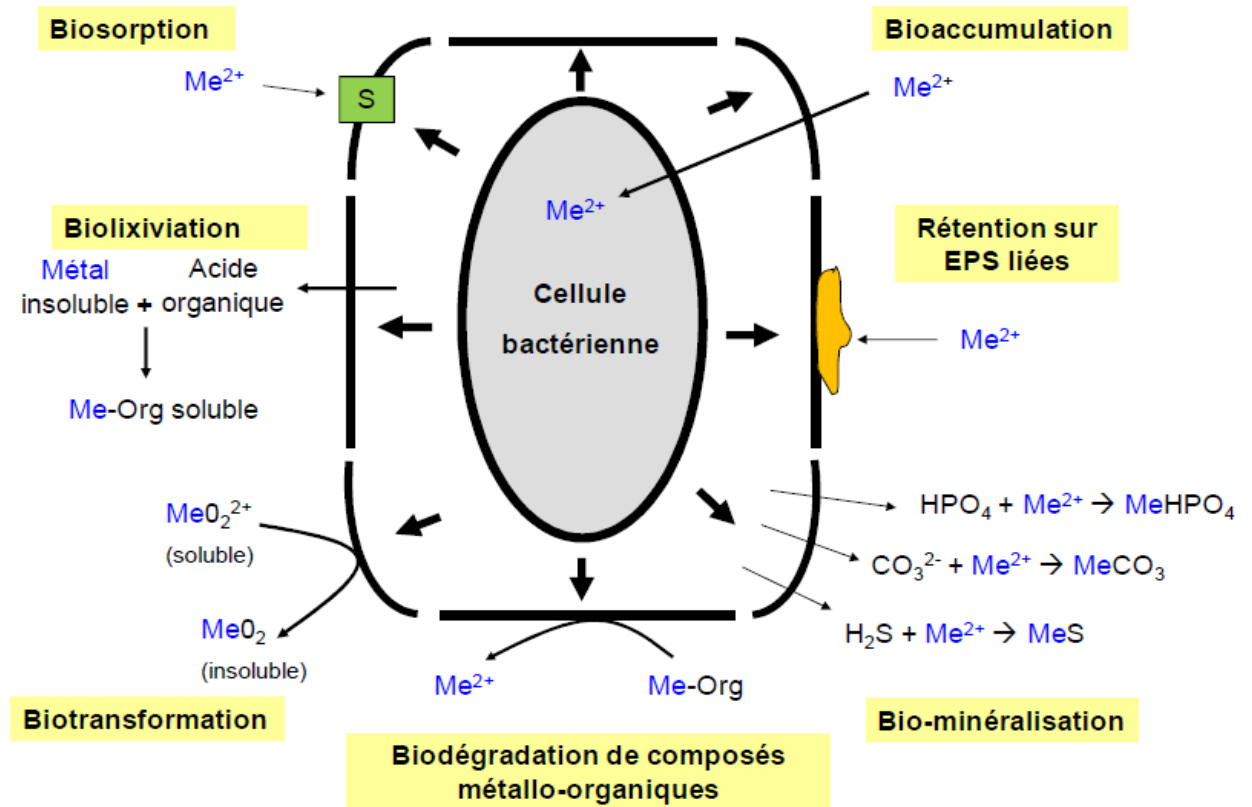


Figure 5: Schéma des interactions entre métaux et bactéries (**Ledin, 2000**).

S correspond aux groupements réactifs présents sur la paroi bactérienne. Me^{2+} correspond à un cation métallique. Org correspond à un composé organique. EPS correspond à : exo-polysaccharide

II.7 Bioaccumulation et biosorption microbienne

Les micro-organismes peuvent éliminer physiquement les métaux d'une solution aqueuse par interaction cellulaire directe conduisant à la bioaccumulation intracellulaire ou biosorption sur la surface de la cellule. La séquestration des métaux toxiques par les deux phénomènes Biosorption / bioaccumulation est considérée comme une des approches les plus pratiques et les plus utilisées dans la bioremédiation (**Barkay et Schaefer, 2001**).

La biosorption est une séquestration passive des métaux par métabolisme indépendant, tandis que la bioaccumulation désigne l'accumulation intracellulaire de métaux par métabolisme dépendant des cellules vivantes. Les cellules vivantes accumulent les métaux généralement en deux phases: une première phase rapide de liaison du ligand sur la surface de la cellule suivie d'une

deuxième phase qui consiste en un transport intracellulaire relativement lent du métal par de larges canaux ioniques / pompes, spécifique ou non au métal (Schiewer et al, 2000). La biosorption, d'autre part, est due principalement à des interactions plus complexes (échange d'ions, adsorption, microprécipitation, et des interactions électrostatiques) avec les groupements cellulaires de liaison avec les métaux (carboxyliques, phosphate, amino, hydroxyle, etc) facilitant ainsi la séquestration du métal dans différents compartiments de la cellule. La biosorption dépend totalement des caractéristiques physico-chimiques de la paroi cellulaire (Langley et Beveridge, 1999).

II.8 Sources du chrome et bioremediation

Les métaux lourds sont les principaux constituants toxiques des eaux usées de divers secteurs d'activité industriels, notamment celles des tanneries. Ces eaux usées représentent un risque important pour l'environnement si elles ne sont pas traitées correctement avant leur rejet dans la nature. Parmi les divers métaux lourds qui existent, le chrome (VI) est considéré l'un des plus dangereux en raison de ces propriétés oxydantes, mutagènes, et cancérogènes. Pratiquement tous les organes statutaires dans le monde citent le Cr (VI) comme l'un des produits chimiques toxiques à contrôler en priorité (Cheung et Gu, 2007).

II.8.1 Les sources de contamination par le chrome

Beaucoup d'activités humaines font appel à l'usage du chrome, il est utilisé dans divers secteurs d'activités : installations en acier inoxydable, préparation d'alliages, chromage, tannage du cuir, production de matériaux réfractaires, industrie des colorants, refroidissement industriels à eau, production de pâte à papier, raffinage du pétrole, préservation du bois et dans le nucléaire (Ye et al, 2010). En conséquence de sa large utilisation, il est devenu très présent dans les effluents industriels et représente un polluant important des sédiments, des sols, de l'eau et de l'air (Saha et al, 2011).

Les eaux usées contaminées, ont donné d'importantes quantités de Cr (VI) dans l'environnement, qui constituent un risque toxicologique pour l'Homme, les animaux et les plantes (Barceloux, 1999). Le Cr (VI) est introduit principalement dans l'environnement par son usage industriel, tandis que le chrome sous sa forme trivalente Cr (III), prédomine naturellement dans l'environnement (Langard, 1990). Le Cr (VI) est fortement diffusé dans les sédiments et les eaux de surface, il est caractérisé par une plus grande solubilité, mobilité et biodisponibilité que le Cr (III) et toutes autres formes de chrome (James, 2002).

En conséquence de cette solubilité dans l'eau et de la mobilité élevée, le Cr (VI) diffuse facilement de son site de contamination. Par ailleurs, l'augmentation du pH du sol, augmente la lixiviation de Cr (VI). le Cr (III) montre une faible mobilité, il est relativement inerte, et facilement

adsorbable sur des surfaces minérales et des phases solides de ligands organiques, c'est de cela que résulte sa faible biodisponibilité dans l'environnement. En outre, le Cr (III) est tout à fait insoluble dans l'environnement à des valeurs de pH importantes, puisque, dans ces conditions, il y a formation d'hydroxydes et de composés d'oxydes insolubles. La mobilité du Cr (III) diminue avec l'adsorption des argiles et des minéraux d'oxydes à pH au dessous de 5. La liaison du Cr (III) aux oxydes de fer peut être considérée comme un exemple de ces mécanismes, cette fonction peut diminuer la solubilité du chrome (**James, 2002; Villegas et al, 2008**).

En présence de conditions d'oxydations, sous forme d'anions de chromate (Cr_4O_2) et de bichromate (H CrO_4), le Cr (VI) est très soluble et mobile. En milieux anaérobies, et dans des conditions réductrices, en présence d'un agent réducteur tels que le fer ferreux, des sulfures, et de la matière organique, le Cr (VI) peut être rapidement converti en Cr (III). La réduction du Cr (VI) par des bactéries rentre dans le cycle biogéochimique du chrome (**Schmieman et al, 1998**).

En milieux liquide le Cr (III) est stable et son oxydation en Cr (VI) est improbable, même en présence d'oxygène dissous (**Eary et al, 1989**). Cependant, il existe différents facteurs affectant l'oxydation du Cr (III) en Cr (VI), cela dépend de la présence des hydroxydes de manganèse Mn (III, IV), du pH, de la forme et la solubilité du Cr (III) (**Weaver et Hochella, 2003**). L'oxydation du Cr (III) est improbable de se produire en milieu aquatique parce que les déchets contenant du Cr (III) sont généralement moins solubles et plus inertes à l'oxydation, et des précipitats de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ peuvent se former sur les surfaces de l'hydroxyde de manganèse Mn (III,IV) (**Fendorf, 1995**). En outre, l'oxydation du Cr (III) est plus rare et moins abondante que la réduction du Cr (VI) dans les sédiments naturels, et l'oxydation du Cr (III) est plus lente que la réduction du Cr (VI) (**Martello et al, 2007**).

II.8.2 Toxicité du chrome

L'exposition au Cr (VI) peut induire chez l'Homme des allergies, eczéma, ulcération, irritations nasales et cutanées, perforation de tympan, troubles de la voie respiratoire et le cancer du poumon (**Gibb et al, 2000; Poopal et Laxman, 2009**).

De plus, le Cr (VI) a une capacité évidente à s'accumuler dans le placenta, endommageant le développement foetal (**Saxena et al, 1990**). La pollution de l'environnement par le Cr(VI) modifie la structure des communautés microbiennes du sol, réduisant ainsi la croissance microbienne et les activités enzymatiques connexes. Il en résulte la persistance de la matière organique dans les sols et l'accumulation du Cr (VI) (**Shi et al, 2002; Zhou et al, 2002**).

L'action toxique du Cr (VI) est due à sa capacité à pénétrer facilement les membranes cellulaires. Il a été beaucoup rapporté que l'endommagement de la membrane cellulaire chez les eucaryotes et les procaryotes, par le stress oxydatif pouvait être provoqué par le Cr (VI), cela

peut être accompagné d'effets nocifs tels que la perte de l'intégrité de la membrane ou l'inhibition de la chaîne de transport d'électrons (**Codd et al, 2001; Francisco et al, 2010**). De plus, le Cr (VI) pénètre dans les cellules à l'aide du système de transport membranaire du sulfate, chez des organismes capables d'utiliser ce substrat (**Silver et al, 2001**).

Une fois à l'intérieur des cellules, le Cr (VI) réagit spontanément avec les réducteurs intracellulaires comme l'ascorbate et le glutathion, et donne en générant des intermédiaires Cr (V) et / ou de Cr (IV) de courte vie, ou des radicaux libres et le Cr (III) comme produit final (**Costa, 2003; Xu et al, 2005**). Dans le cytoplasme de la cellule, le Cr (V) est oxydé en Cr (VI) et le procédé produit des espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui se combinent facilement avec les complexes ADN-protéines.

D'autre part, le Cr (IV) est capable de se lier à des matériaux cellulaires, modifiant leurs fonctions physiologiques normales (**Pesti et al, 2000**). Il est bien connu que le Cr (VI) et les radicaux hydroxyles provoquent des lésions de l'ADN *in vivo* (**Zhitkovich et al, 2001**). Les intermédiaires qui proviennent de l'action du Cr (VI) sont dangereux pour les organites cellulaires, les protéines et les acides nucléiques (**Plaper et al, 2002**).

Le Cr (VI) est une forme chimique très dangereuse pour les systèmes biologiques, il peut provoquer des mutations et du cancer ou avoir des effets tératogènes. En outre, le Cr (VI) est capable d'induire un stress oxydatif dans les cellules, endommageant son ADN (**Reynolds et al, 2009**). A l'intérieur des cellules, les adduits Cr (III)-ADN dû à l'endommagement de l'ADN par stress oxydatif induit par les radicaux hydroxyles, ont un rôle central dans les effets génotoxiques et mutagènes (**Valko et al, 2005**). De plus, la formation d'adduits binaire Cr(III)-ADN et ternaires également d'ADN- L-cystéine -Cr (III) et ascorbate -Cr(III) - ADN sont susceptibles d'augmenter à la fois la génotoxicité et la mutagénicité dans les cellules humaines (**Quievryn et al, 2002; Quievryn et al, 2003**).

Le Cr (VI) est classé par l'Agence de Protection de l'Environnement des États-Unis (EPA) dans la catégorie « A », celle des polluants les plus cancérigènes pour l'Homme vu ses effets dangereux pour la santé humaine (**Costa et Klein, 2006**). La membrane cellulaire est pratiquement imperméable au Cr (III), ainsi le Cr (III) ne représente seulement qu'un millième de la toxicité du Cr (VI) (**Polti et al, 2010**).

Compte tenu de ces considérations, il est possible de conclure que, en fonction de son état d'oxydation, le chrome peut avoir différents effets biologiques, le Cr (VI) qui est hautement toxique pour la plupart des organismes, et le Cr (III) qui est relativement inoffensif (**Wong et al, 1988; Katz et Salem, 1993**).

II.8.3 La réglementation

Selon US-EPA, la limite autorisée de Cr (VI) est de moins de 0,05 mg/L elle doit être atteinte avant de déverser des eaux usées contaminées par du chromate dans l'environnement (**Srivastava et Thakur, 2007; Sharma et Adholeya, 2011**). La limite autorisée de Cr (VI) adoptée en Algérie pour les effluents industriels est : 0.5mg/L selon le décret exécutif n° 06-141 du 19 avril 2006 qui définit les valeurs limites des rejets d'effluents liquides industriels (**Journal Officiel**).

II.8.4 Résistance et réduction microbienne du Cr (VI)

Malgré la toxicité du Cr (VI), certains micro-organismes présentent une résistance à ce métal, montrant une capacité à réduire le Cr (VI) en Cr (III), comme a été signalé pour *Pseudomonas sp*, un nombre croissant de bactéries capables de réduire le Cr (VI) a été observé en 1979 (**Lebedeva et Lyalikova, 1979**). Depuis lors, il a été mis en évidence, la présence de nombreuses bactéries capables de transformer le Cr (VI) en Cr (III) dans des conditions différentes (**Park et al, 2000; Megharaj et al, 2003**).

L'isolement et la purification de la Cr (VI) réductases de certaines bactéries aérobies, et l'étude des processus impliqués dans la réduction du Cr (VI) en conditions anaérobies, permettent de comprendre les processus biologiques de résistance au chrome (**Sarangi et Krishnan, 2008**). De nombreuses bactéries ont alors été identifiées pour leur capacité à réduire le Cr (VI) en Cr (III) comme mécanisme de résistance au Cr (VI) (**Camargo et al, 2003**). Plusieurs études ont mis en évidence différentes bactéries capables de réduire le Cr (VI), *Escherichia coli* (**Shen et Wang, 1993**), *Pseudomonas putida* (**Ishibashi et al, 1990**), *Desulfovibrio sp* (**Mabbett et Macaskie, 2001**), *Bacillus sp*, *Shewanella sp* (**Myers et al, 2000**), *Arthrobacter sp*, *Streptomyces sp*. MC1 (**Polti et al, 2010**) et *Microbacterium sp*.CR- 07 (**Liu et al, 2012**).

L'opéron chrBCAF confère une résistance au Cr (VI), synthétisant les protéines chrA et chrB qui agissent comme régulateurs de sensibilité au chromate (**Branco et al, 2005**). La Réduction enzymatique du Cr (VI) a été mis en évidence chez un *Halomonas sp* souche TA- 04, isolée des sédiments marins pollués, en présence de 8,0 % de NaCl qui ouvre de nouvelles perspectives pour la réduction du chrome en conditions halophiles (**Focardi et al, 2012**).

Une étude sur les mécanismes de résistance aux chromates, en particulier au niveau des cellules bactériennes a permis de les mettre en évidence. Les meilleurs mécanismes, qui ont été rapportés incluent un efflux d'ions de chromate à partir du cytoplasme de la cellule avec la réduction de Cr (VI) en Cr (III) (**Ramírez-Díaz et al, 2007**). L'efflux par des protéines de transport chrA a été identifiée chez *Pseudomonas aeruginosa* et chez *Cupriavidus metallidurans* (anciennement *Alcaligenes eutrophus*) et consiste en un processus dépendant de l'énergie entraînée par un potentiel membranaire. En outre, la réduction du chromate est complétée par l'action de la

chromate-réductase par différentes espèces bactériennes génératrices de Cr (III), cela peut être une action de désintoxication engendrée par d'autres mécanismes. La plupart des enzymes spécifiques appartiennent à la grande famille des flavoprotéine réductase NAD PH -dépendantes. D'autres mécanismes de résistance bactérienne au chrome ont été mis en évidence, et ces mécanismes étaient liés à l'expression des composants du système de réparation de l'ADN et des mécanismes de l'homéostasie du fer et du soufre (**Ramírez-Díaz et al, 2007**)

Les micro-organismes aérobies et anaérobies sont tous les deux capables de réduire le Cr (VI) en Cr (III). En conditions d'aérobie, il est aussi possible d'observer la bio- réduction du Cr (VI) directement par métabolisme microbien (**Losi et Frankenberger, 1994**). En présence d'oxygène, la réduction microbienne du Cr (VI) est couramment catalysée par des enzymes solubles, sauf chez *Pseudomonas maltophilia* O2- et *Bacillus megaterium* TKW3, qui utilisent des réductases associées à la membrane. La Cr (VI) réductase chrR qui est soluble a été purifiée chez *Pseudomonas putida* MK1 et la réductase YieF purifiée chez *Escherichia coli*. L'enzyme CHRR catalyse le transfert d'un électron suivi d'un transfert de deux électrons au Cr (VI), avec la formation de l'intermédiaire (s) Cr (V) et / ou de Cr (IV) avant de poursuivre la réduction au Cr (III). La réductase YieF présente un transfert à quatre électrons qui réduit le Cr (VI) directement au Cr (III) (**Wang, 2000**).

La Cr(VI) réductase associée à la membrane a été isolé chez *Bacillus megaterium* TKW3, sans aucune caractérisation cinétique de la réduction associée. En l'absence d'oxygène, la réduction du Cr (VI) à la fois par des enzymes solubles et des enzymes associées à la membrane a été démontrée, et la fonction du Cr (VI) comme accepteur final d'électrons dans une chaîne de transfert d'électrons implique souvent les cytochromes. Les travaux de recherches sur les Cr (VI) réductases mettent l'accent sur les enzymes ayant une grande activité réductrice. Dans les conditions anaérobies, les processus de réduction utilisent une large gamme de composés, comportant les hydrates de carbone, protéines, graisses, de l'hydrogène, du NAD (P) H et les réserves endogènes d'électrons, qui peuvent jouer le rôle de donneurs d'électrons dans le processus de réduction (**Wang, 2000**). Vu l'avancement technologique, dans le domaine de l'immobilisation des enzymes, l'application directe de la Cr (VI) réductases pourrait être une approche importante pour la bioremédiation du Cr (VI) dans des environnements différents, en particulier la où l'application entières des cellules est difficiles (**Cheung et Gu, 2007; Kiran et al, 2007**).

II.8.5 Bioremediation du Cr (VI)

Divers procédés physico-chimiques conventionnels tels que la réduction chimique suivie d'une précipitation, l'échange d'ions, l'adsorption (charbon, charbon actif, cendres volantes), l'osmose inverse, la membrane de séparation, et l'extraction par solvant sont des procédés

disponibles pour le traitement du chrome et des autres métaux lourds dans les eaux usées (**Gupta et al, 2009; Liu et al, 2012**). En raison de leur tendance à causer une pollution secondaire, leur coût élevé et la grande quantité d'énergie qu'ils exigent, l'accent a été porté sur des traitements alternatifs, tels que les procédés de traitements biologiques utilisant des micro-organismes résistants au chrome (**Pei et al, 2009**). Ces méthodes ne sont pas seulement économiques et efficaces, elles résolvent de manière naturelle les problèmes associés à ces types de polluants des eaux usées. Divers rapports sur l'utilisation des microbes métallo-tolérants pour le traitement du Cr (VI) présent dans les eaux usées ont été cités par plusieurs auteurs cette dernière décennie (**Pazouki et al, 2007; Naik et al, 2012**).

Les techniques de bioremédiation peuvent être classées en méthodes *in situ* ou *ex situ*, si l'intervention est effectuée avec des bactéries appropriées, directement sur le site pollué la méthode est dite *in situ*, lorsqu'elle est appliquée sur des parties de l'environnement, tels que l'eau, les sédiments ou le sol, après avoir été retirés et transportés dans des installations de traitement appropriées, la méthode est dite alors *ex situ* (**Komori et al, 1990**).

La résistance des micro-organismes au Cr (VI) représente une importante opportunité pour réduire le Cr (VI) en Cr (III), c'est une méthode économique et respectueuse de l'environnement, et très prometteuse pour son application dans la bioremédiation, la réduction du Cr (VI) en Cr (III) est alors un processus potentiellement utile pour la récupération des sites contaminés par le Cr (VI) (**Polti et al, 2010; Jain et al, 2012**). L'insolubilité du Cr (III) facilite sa précipitation et son élimination, la biotransformation de Cr (VI) en Cr (III) a été considérée comme une forme du procédé de traitement du Cr (VI) des déchets contaminés. La technologie de bioremédiation comprend aussi la phycoremediation qui utilise des micro-organismes photosynthétiques tels que les microalgues et les cyanobactéries dans l'élimination des polluants métalliques (**Olguín et Sánche, 2012**). Les levures et en particulier les moisissures ont été plus largement étudiées sur cet aspect (**Poljsak et al, 2010**).

La capacité que possède un certain nombre de micro-organismes de l'environnement, connus pour leur aptitude à se lier aux métaux, est mise en évidence aussi chez des bactéries gastro-intestinales humaines. Les espèces bactériennes appartenant au genre *Lactobacillus*, résidants dans différents endroits comme le corps humain et dans les aliments fermentés, ont la capacité de se lier aux métaux, notamment le Cr (VI), et de les détoxifier (**Monachese et al, 2012**).

Une méthode de bioremédiation pour les sites contaminés par les métaux, y compris le chrome, est représentée par une phytoextraction assistée par une bioaugmentation, dans laquelle les bactéries et les champignons, associés à des plantes capables d'accumuler des métaux, est proposée comme un bioprocédé pour une approche de bioremédiation. La mise en œuvre de la

Synthèse bibliographique

bioaugmentation pour favoriser la survie microbienne, a été proposée en vue de renforcer l'association microbienne et végétale et l'efficacité du processus (**Lebeau et al, 2008**).

Le processus de biominéralisation est un processus par lequel des micro-organismes transforment des ions métalliques en milieu aqueux, y compris le chrome, en des précipités amorphes ou cristallins. La biominéralisation est considérée comme une stratégie prometteuse et rentable pour se débarrasser de la contamination par le chrome. Un exemple de précipitation de l'arsenic a été considéré comme un mécanisme possible pour la bioremédiation de l'arsenic depuis les sédiments contaminés par de l'arsenic (**Focardi et al, 2010**). Les transformations biologiques, l'immobilisation, et la minéralisation de métaux toxiques peuvent représenter une perspective importante pour la bioremédiation (**Cheng Y et al, 2012**).

Matériels
et
Méthodes

III Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Toxicologie Moléculaire, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Jijel, sur une période de 12 mois. Ces expérimentations nous ont permis d'étudier : (1) la résistance des souches bactériennes au chrome, (2) l'effet du chrome sur la croissance bactérienne, (3) la caractérisation des souches sélectionnées pour l'étude, (4) la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), (5) l'étude de l'élimination du chrome par les souches et (6) l'étude de la bioremediation par l'application directe des souches sur l'effluent de la tannerie.

L'objectif de ce travail était d'étudier la bioremediation du chrome, par des souches bactériennes isolées des boues de la station d'épuration de la tannerie de Jijel, dans une perspective de bio-dépollution.

III.1 Matériel

III.1.1 Matériel biologique

Les souches microbiennes utilisées dans cette étude, étaient isolées à partir de la boue activée, en provenance du bassin d'aération, de la station d'épuration de la tannerie de Jijel.

III.1.2 Le dichromate de potassium

Le dichromate de potassium a été utilisé dans cette étude, il est sous forme d'une poudre orange, de formule chimique $K_2Cr_2O_7$. Dans l'eau, il se dissocie en ions dichromate et en ions potassium. L'ion dichromate ($Cr_2O_7^{2-}$) étant un puissant agent oxydant, ce produit est couramment utilisé dans les réactions d'oxydo-réduction en laboratoire et dans l'industrie. Comme tous les composés du chrome hexavalent le dichromate est dangereux pour la santé.

III.1.3 Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour isoler et cultiver les bactéries de l'environnement sont :

- Bouillon nutritif (BN) (Institut Pasteur)
- Gélose nutritive (GN) (Institut Pasteur)

III.2 Méthodes

III.2.1 Choix du site de prélèvement

Le choix du site de prélèvement était fonction des objectifs initialement fixés et du potentiel opérationnel que présente le site pour un éventuel résultat positif. On a choisi de travailler sur la bioremédiation du chrome hexavalent, par conséquent le choix du site de prélèvement était porté sur la tannerie de Jijel, vue l'usage du chrome dans le processus de tannage.

III.2.2 Echantillon de boue d'épuration des effluents de la tannerie de Jijel

Les échantillons de boue d'épuration ont été collectés dans des flacons stériles, au mois de novembre 2013, depuis la station d'épuration de la tannerie de Jijel. Les échantillons recueillis ont été transportés au laboratoire et conservés au réfrigérateur.

III.2.3 Enrichissement et isolement des souches bactériennes

L'enrichissement des cultures, a été réalisé dans un milieu contenant du bouillon nutritif, de la boue activée et 0.05g de poudre de dichromate de potassium, dans un volume totale de 100 ml. Le milieu est laissé à l'ombre à température ambiante pendant 48h. Après agitation, on a prélevé 1 ml du mélange et réalisé des dilutions dans de l'eau physiologique jusqu'à 10^{-10} . A partir de chaque tube de dilution on a prélevé 40 μ l et réalisé un étalement par râteau sur gélose nutritive en boîte de Pétri, ces dernières ont été incubées pendant 24h à 37°C ce qui a permis le développement de colonies bactériennes (**Sundar et al, 2010**).

En se basant sur l'aspect macroscopique, diverses colonies ont été prélevées et repiquées sur la gélose nutritive préalablement coulée et séchée. L'ensemencement de la gélose nutritive a été fait par la méthode des stries, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h. Le repiquage est refait jusqu'à l'obtention de souches pures. On peut dire que la souche est pure si on obtient des colonies homogènes de même forme, même taille et même couleur.

Pour confirmer la pureté des souches, une coloration de Gram a été réalisée.

III.2.4 Préparation de la solution mère du chrome hexavalent

Une solution mère de 1000 mg / L de Cr (VI) a été préparée en dissolvant 2,83 g de dichromate de potassium dans 1 l d'eau distillée. La solution mère a été encore diluée avec de l'eau distillée pour obtenir des solutions de Cr (VI) de la gamme de concentration souhaitée. Le pH des solutions a été ajusté en utilisant du HCl et du NaOH (**Garima et Dhiraj, 2013**).

III.2.5 Préparation de l'inoculum bactérien

A fin de travailler sur des cellules bactériennes viables, chaque souche étudiée et choisie pour un test, est préalablement activée dans du bouillon nutritif, pour cela on fait des prélèvements de colonies pures avec l'anse de platine, et on les incorpore dans des tubes à essai contenant 10 ml de bouillon nutritif, ensuite les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 h.

III.2.6 Réalisation d'une courbe d'étalonnage pour la quantification des cellules par spectrophotométrie

Les souches bactériennes utilisées ont été activées sur bouillon nutritif, incubées à 37°C⁰ pendant 24h. La densité optique de 3 ml est mesurée à 600 nm, ensuite 100 μ l de la suspension sont

étalés sur gélose nutritive et le nombre de colonies bactériennes est compté. La même opération est réalisée pour une série de dilutions (1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16) avec de l'eau physiologique dans un volume finale de 3 ml, les colonies bactériennes ont été dénombrées, et exprimés en UFC/ml. Les courbes d'étalonnage étaient tracées en portant la DO à 600nm en fonction du nombre d'UFC/ml (voir annexe 4, 5, et 6).

III.2.7 Screening et sélection des souches résistantes au chrome (VI)

Les souches capables de résister au chrome ont été sélectionnées suite à un test de screening, ce dernier consiste à étudier la croissance de dix de souches, dans un milieu contenant du chrome, en mesurant la densité optique DO à 600 nm, dans des tubes à essai contenant un volume total de 10 ml, constitué de bouillon nutritif, d'une concentration de 40 mg/l en Cr (VI) et de 1ml d'inoculum bactérien préalablement préparé (d'une DO à 600 nm de 0.292, 0.187 et 0.128 pour les trois souches A1-1, A1-4 et A3-1 respectivement). Les tubes ont été incubés à une température de 37°C sous agitation modérée et la densité optique est mesurée à temps 0, 24h, 48h et 72h (Soha et Sahar, 2010).

III.2.8 Caractérisation morphologique et biochimique des souches sélectionnées pour l'étude

Sur les dix souches étudiées, trois souches tolérantes au chrome ont été sélectionnées après le test de screening (A1-1, A1-4 et A3-1), elles ont ensuite été caractérisées par des tests morphologiques et des tests biochimiques (Delarras et al, 2007). Les souches purifiées ont fait l'objet d'une coloration de gram, la morphologie et le mode de regroupement ont été étudiés sous microscope optique, en plus les tests biochimiques suivants ont été réalisés :

-Test de fermentation des sucres : Ce test est réalisé sur le milieu MEGAV afin de déterminer le type de métabolisme glucidique (fermentation ou oxydation)

-Test de dégradation du Mannitol : Le milieu mannitol-mobilité permet d'étudier la dégradation du mannitol et la mobilité des souches bactériennes.

-Test de fermentation des trois sucre (TSI) : Le milieu TSI contient trois sucres qui sont le glucose, le lactose et le saccharose, ce test est utilisé pour déterminer si les bactéries peuvent fermenter le glucose et/ou le lactose et voir si elles produisent du sulfure d'hydrogène (H₂S).

-Test de production d'acides mixtes : ce test est effectué sur le milieu Clark et Lubs, pour voir la production d'acides mixtes. La lecture se fait après l'addition de quelques gouttes de rouge de méthyle.

-Recherche des décarboxylases :(arginine-dihydrolase: ADH; ornithine-décarboxylase: ODC; lysine-décarboxylase: LDC) le milieu utilisé est le milieu Moëller.

-Mise en évidence de l'uréase : Ce test est réalisé sur le milieu urée-indole. Le virage de couleur au rouge violacé indique la présence de l'uréase.

-Utilisation du citrate comme seule source de carbone: ce test est réalisé sur le milieu de Simmons. Une culture bactérienne abondante avec bleuissement du milieu démontre l'utilisation de citrate.

-Test de réduction des nitrates: Ce test est réalisé pour étudier la réduction des nitrates en nitrites par les bactéries.

-Recherche de la catalase : le test consiste à mettre du matériel bactérien, prélevé par une anse métallique dans une goutte de peroxyde d'hydrogène déposée sur une lame de verre. La présence de catalase s'exprime par un dégagement gazeux (O₂) très visible.

-Test de production d'indole: la culture est réalisée dans le milieu Urée-indole, l'indole produit est révélé par le réactif de Kovacs.

-Recherche de l'oxydase: le test consiste à déposer des bactéries, prélevées par une anse métallique sur le disque à oxydase. La présence d'une oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration rouge violette virant rapidement au noir.

III.2.9 Identification moléculaire des souches sélectionnées

Les souches A1-1 et A3-1 ont fait l'objet d'une identification moléculaire par M^{me} Aissaoui Salima, au niveau du laboratoire des Microorganismes et Molécules Bioactives de l'Université d'Elmanar II en Tunisie. La préparation de l'ADN génomique bactérien a été réalisée par lyse alcaline (Woodford et al, 1993), Une amplification du segment ADNr 16S a été réalisée, car ce dernier est conservé dans l'espèce bactérienne. L'identification des souches, est établie en se basant sur la comparaison des séquences du gène codant l'ARNr 16S, avec les séquences disponibles dans

la base de données « GenBank », en utilisant le programme BLAST. Après identification des souches, les séquences ont été soumises dans la base de données « GenBank », ensuite un arbre phylogénétique a été construit en utilisant le programme Tree Dyn (v198.3), pour positionner nos souches par rapport aux souches les plus proches.

III.2.10 Effet du chrome sur la croissance bactérienne

Dans des tubes à essai les trois souches bactériennes retenues (A1-1, A1-4 et A3-1) ont été activées et inoculées dans 10ml de bouillon nutritif en présence d'une concentration de 40mg/l en Cr (VI) (1ml de l'inoculum d'une DO de 0.246, 0.189 et 0.246 pour les souches A1-1, A1-4 et A3-1 respectivement). Parallèlement, des tubes témoins ne contenant que du bouillon nutritif et la culture, ont été préparés. Les tubes ont été incubés à 37°C et la DO a été mesurée pour chaque tube aux temps 0, 24, 48 et 72h. L'effet du chrome sur la croissance bactérienne est alors étudié par la comparaison des deux lots de tubes (**Focardi et al, 2012**).

III.2.11 Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été mesurée pour les trois souches (A1-1, A1-4 et A3-1) selon la méthode adaptée par **Calomiris et al (1984)**, qui consiste à préparer un gradient de concentrations croissant en Cr (VI) allant de 20 mg/L à 500 mg/L. Dans des tubes à essai d'un volume total de 10 ml, contenant du bouillon nutritif et une concentration de Cr (VI), on ajoute l'inoculum de la souche activée, avec un volume de 2% du volume total du milieu et un blanc pour chaque concentration. Le milieu est incubé à 37°C, on mesure ensuite la croissance bactérienne (mesure de la DO à 600nm pour t_0 et $t_{24\text{ h}}$).

La concentration minimale inhibitrice correspond à la valeur à partir de laquelle on n'obtient pas une variation du trouble entre t_0 et $t_{24\text{ h}}$.

III.2.12 Test d'élimination du chrome par les souches (A1-1, A1-4 et A3-1)

Dans des erlenmeyers de 250 ml stériles, on prépare un volume de 100 ml constitué de bouillon nutritif, d'une concentration de 50 mg/L en Cr (VI), et de l'inoculum initial pour chaque souche à tester, avec une proportion de 2% du volume total (la DO de l'inoculum à 600 nm pour les souches A1-1, A1-4 et A3-1, est respectivement: 0.247, 0.197 et 0.232). Le milieu est incubé à 37°C avec agitation modérée pendant une durée de 72h. Pour évaluer l'impact des facteurs abiotiques sur le devenir du chrome, un test témoin dépourvu de culture bactérienne a été utilisé.

Les erlenmeyers sont couverts par du papier aluminium et fermés par le coton pour assurer l'aération. Des prélèvements de 10 ml sont réalisés plusieurs fois en t_0 , t_{24} , t_{48} et t_{72} dans des conditions d'asepsies, afin de suivre l'évolution de la concentration du chrome dans le temps. Les échantillons sont centrifugés pendant 20 min à 6,000 rpm et filtrés par des micro-filtres (0,22 μm)

afin d'obtenir un surnageant exempt de cellules microbiennes (**Amrik et Anshu, 2013**). Les filtrats sont conservés dans des micro-tubes au congélateur, le taux de réduction du chrome (T_r) est calculé en utilisant la formule suivante (**Pang et al, 2011**) :

$$T_r = [(C_0 - C_t) / C_0] \times 100$$

C_0 : concentration initiale du Cr (VI)

C_t : concentration du Cr (VI) en temps t

t : temps d'incubation.

III.2.13 Application des souches dans le traitement des eaux usées de la tannerie

Un échantillon des eaux usées de la tannerie de Jijel a été prélevé, après analyse de l'eau usée par spectrophotométrie d'absorption atomique SAA, AA-6200 de marque SHIMADZU, l'eau s'est révélé contenir des concentrations élevées en Cr (VI), l'échantillon était alors dilué (1: 1000), le pH de l'échantillon est mesuré (pH=4). Le même dispositif du test précédent (**III.2.12**) a été réalisé dans ce test, en remplaçant le bouillon nutritif par l'eau usée de la tannerie. Pour la préparation de l'inoculum, une culture bactérienne de 24h pour chaque souche a été centrifugée, les culots ont été récupérés, dans ce test, les trois souches bactériennes sont utilisées simultanément, le culot final avait une masse cellulaire total de 0.005mg en poids humide, le culot a été lavé deux fois avec une solution saline stérile et mis en suspension dans 2 ml de solution saline, la suspension bactérienne a été utilisée pour inoculer 100 ml de l'eaux usées diluée, du glucose a été ajouté comme source de carbone avec une proportion de 0,5% (p / v). Le traitement a été effectué à 37C° avec agitation pendant 72 h. Afin de surveiller le rôle des micro-organismes indigènes dans la diminution du chrome, le même test a été réalisé dans des conditions similaires, mais sans l'addition des souches bactériennes.

Des prélèvements de 5 ml sont réalisés plusieurs fois en t_0 , t_{24} , t_{48} et t_{72} dans des conditions d'asepsie, afin de suivre l'évolution de la concentration du chrome dans le temps. Les prélèvements sont centrifugés pendant 20 min à 6,000 rpm et filtrés par des micro-filtres (0,22 μ m) afin d'obtenir un surnageant exempt de cellules microbiennes (**Amrik et Anshu, 2013**). Les filtrats sont conservés dans des micro-tubes au congélateur, le taux de réduction (T_r) est calculé en utilisant la même formule précédente (**III.2.12**) (**Pang et al, 2011**).

III.2.14 L'analyse statistique des données

Pour voir si nos résultats sont statistiquement équivalents avec les résultats rapportés par d'autres auteurs, un test d'équivalence a été utilisé, c'est le test d'équivalence de Mood. L'analyse statistique concerne les résultats du test de bioremediation (**III.2.12**).

Résultats
et
Discussion

IV Résultats et Discussion

L'échantillon de boue d'épuration nous a permis l'isolement de 10 souches, morphologiquement différentes à l'observation, qui ont fait l'objet des tests suivants.

IV.1 Screening et sélection des souches résistantes au chrome(VI)

Ce test est réalisé dans le but de choisir les souches les plus résistantes, c'est à dire celles qui sont capables de croître et de se multiplier en présence du chrome (40mg/l). Les souches les plus tolérantes au chrome ont été retenues pour les autres tests de l'étude. La croissance microbienne était estimée en fonction de la turbidité du milieu, en mesurant la densité optique (DO) de chaque culture, à 600nm sur une durée de 72h à raison d'une mesure chaque 24h. Les résultats de ce test sont représentés dans les **figures 06 et 07 et le tableau 02**

(Voir annexe 01).

Tableau 02 : Le taux de croissance (h^{-1}) des dix souches isolées des boues de la tannerie de Jijel, dans du bouillon nutritif additionné de 40 mg/l de Cr (VI) et incubées à 37 °C.

Souches \ temps	T24	T48	T72
A1-1	0,027	0,043	0,051
A1-2	0,019	0,033	0,022
A1-3	0,011	0,015	0,006
A1-4	0,033	0,047	0,082
A2-1	0,036	0,020	0,021
A2-2	0,018	0,011	0,010
A3-1	0,019	0,023	0,032
A3-2	0,022	0,016	0,010
A3-3	0,051	0,039	0,036
A4-1	0,003	0,010	0,021

Résultats et Discussion

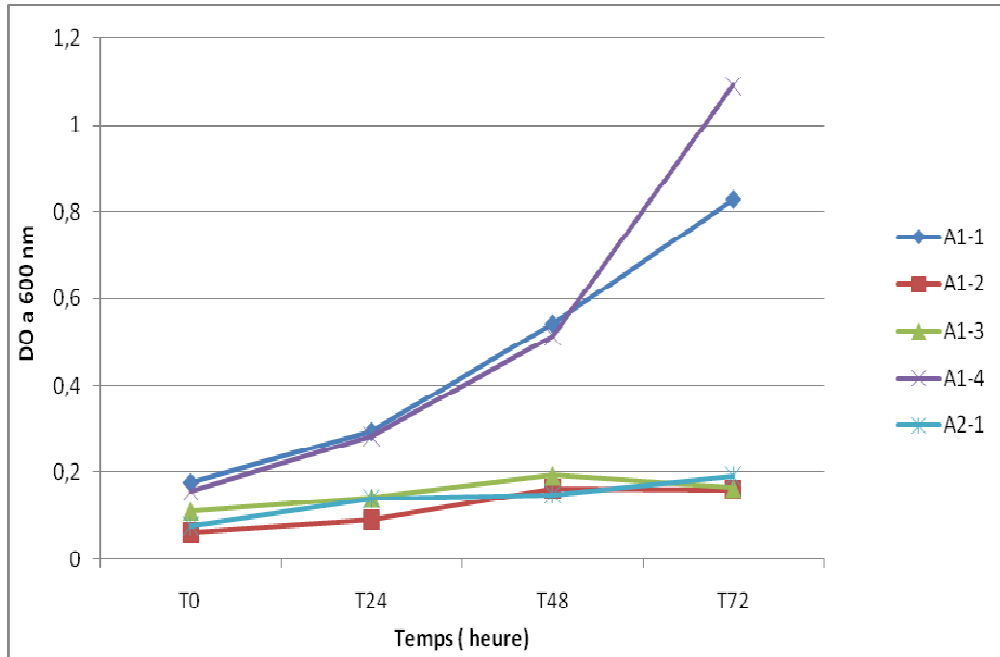


Figure 06: Cinétique de croissance bactérienne constitué de 05 souches, isolées des boues d'épuration de la tannerie de Jijel, dans du bouillon nutritif additionné de 40 mg/L de Cr (VI) et incubées à 37 °C.

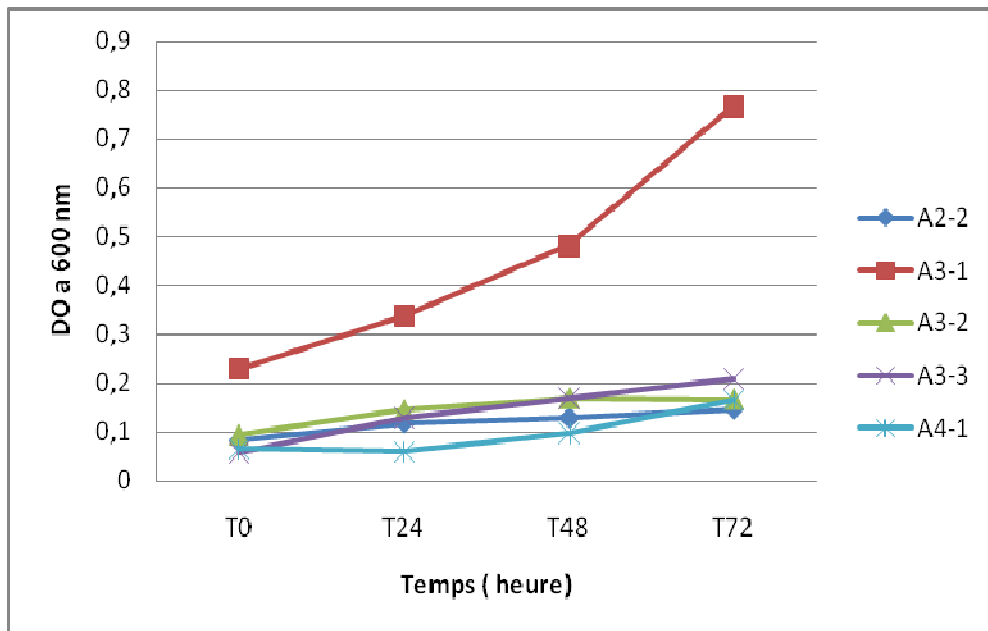


Figure 07: Cinétique de croissance bactérienne constitué de 05 autres souches, isolées des boues d'épuration de la tannerie de Jijel, dans du bouillon nutritif additionné de 40 mg/l de Cr (VI) et incubées à 37 °C.

On peut constater à partir des **figures 06 et 07**, que parmi l'ensemble des dix souches testées, seulement trois d'entre elles ont été capables de se développer, dans un milieu contenant une concentration de 40mg/l de chrome, ce sont les souches nommées A1-1, A1-4 (**Figure 06**) et la souche A3-1 (**Figure 07**). Le calcul du taux de croissance de l'ensemble des souches le montre aussi (**tableau 2**).

D'après l'étude de **Ramírez-Díaz et al (2007)**, la capacité des bactéries à continuer de croître et de se multiplier dans un milieu contenant du chrome, était probablement attribuée à un efflux d'ions de chromate à partir du cytoplasme de la cellule microbienne, avec la réduction de Cr (VI) en Cr (III). Pour la souche *Bacillus megaterium*, **Wang et al (2000)** ont signalé la présence de l'enzyme chromate-réductase associées à la membrane, qui utilise le Cr (VI) comme accepteur final d'électrons dans une chaîne de transfert d'électrons, et réduit le Cr (VI) qui est très toxique, en Cr (III) moins toxique. Le test est réalisé en conditions d'anaérobiose, où les processus de réduction, utilisent une large gamme de composés (coenzymes) qui peuvent jouer le rôle de donneurs d'électrons. Ce qui peut expliquer la grande capacité des trois souches A1-1, A1-4 et A3-1 à se multiplier dans ces conditions en présence du chrome (**Wang et al, 2000**).

IV.2 Caractérisation morphologiques et biochimiques des souches

Cette étape nous a permis d'identifier partiellement les souches A1-1, A4-1 et A3-1, elle comporte une observation macroscopique des colonies (la forme, la taille, la couleur...etc.), qui permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. et une observation microscopique après coloration de gram (morphologie, mode de regroupement, mobilité...etc.). Les épreuves biochimiques permettent en général de distinguer les genres et les espèces. Cette approche nous oriente sur le métabolisme suivi par les bactéries et les enzymes qu'elles possèdent (**Delarras, 2007**). Les résultats de l'ensemble des tests sont résumés dans le **tableau 03**.

Résultats et Discussion

Tableau 03: Caractères biochimiques et morphologiques des cultures étudiées.

souches Caractère	A1-1	A1-4	A3-1
-couleur	Blanchâtre	Blanchâtre	Blanchâtre
-Diamètre des colonies	∅ : 3 mm	∅ : 2 mm	∅ : 4 mm
-Forme cellulaire	bacille	bacille	bacille
-Gram+/-	G+	G+	G+
-Mode de regroupement	Chainette longue	Chainette	Chainette en L
-spore	+	+	-
-Type respiratoire	AAF	Aérobie	AAF
-Catalase	+	+	+
-Mannitol	-	-	-
- Mobilité	+	-	+
-TSI:Glucose	+	+	+
-Lactose	+	+	+
-H₂S	-	-	-
-Gaz	+	-	+
-uréase	-	-	-
-RM	+	+	+
-nitrate réductase	+	+	-
-ADH	-	-	-
-ODC	-	-	-
-LDC	-	-	-
-Citrate de Simmons	+	+	+
-Oxydase	-	-	-

AAF : aéro-anaérobie facultatif.

+ : test positif.

- : test négatif.

Une identification préalable est réalisée, à l'échelle du genre ou de la famille, selon la classification de **BERGEY**, les trois souches bactériennes A1-1, A1-4 et A3-1 peuvent être affiliées comme étant apparentées à la famille des *Bacillaceae*. En raison de la morphologie de leurs cellules en forme de bacilles, Gram positif, catalase positive, oxydase négative, une citrate perméase positive, ADH, LDC et ODC négatives, oxydant le glucose et le lactose, et ne produisant pas du H₂S. Toutes ces caractéristiques sont assimilées au genre *Bacillus* (**Delarras, 2007; Krieg al, 2010**). Toutefois, d'autres méthodes d'identification, notamment l'identification moléculaire, ont été nécessaires, pour affiner l'identification et confirmer si possible, les espèces bactériennes étudiées. Faute de moyens, l'identification moléculaire était limitée seulement aux deux souches A1-1 et A3-1.

IV.3 Caractérisation moléculaire des deux souches A1-1 et A3-1

Pour confirmer les résultats des tests biochimiques concernant l'identification des isolats performants A1-1 et A3-1, une technique basée sur la PCR et le séquençage a été utilisée pour l'identification des isolats bactériens à un niveau moléculaire. Cette méthode d'identification est basée principalement sur la conservation du gène de l'ARNr 16S (ou ADNr) chez les espèces bactériennes étant donné que ce gène exerce de nombreuses fonctions importantes dans le processus de la synthèse des protéines. Le gène d'ADNr 16S est spécifique à l'espèce. L'ADN génomique total a été isolé, purifié et utilisé comme matrice pour la PCR. Le gène de l'ARNr 16S (1,5 kpb) présent dans l'ADN des souches a été amplifié par PCR en utilisant des amorces dégénérées spécifiques du gène. Les produits amplifiés ont été purifiés, analysés par électrophorèse sur gel d'agarose et enfin séquencés.

Le séquençage des produits de la PCR a abouti à deux fragments de 824 paires de bases pour la souche A1-1 et de 817 pb pour la souche A3-1, ce qui représente une séquence partielle du gène de l'ARNr 16S (**Annexe 14**).

Le programme BLAST de comparaison avec les bases de séquences a été utilisé pour comparer les séquences d'ADN avec celui des autres gènes ARNr 16S connus et déposés dans la base de données Genbank. Les résultats ont indiqué que, l'isolat A1-1 était plus proche à *Bacillus megaterium* par 97 % alors que l'isolat A3-1 était plus proche à *Bacillus megaterium* par 98%, ce qui confirme les résultats obtenus par l'identification biochimique notamment pour le genre. En outre, les séquences nucléotidiques ont été déposées dans la base de données de séquences Genbank et recevant les numéros d'accès suivants KP163917 et KP163918, pour les souches A1-1 et A3-1, respectivement (**Annexes 11 et 12**).

Résultats et Discussion

La détermination de la séquence nucléotidique du gène d'ADNr lui permet d'être ajoutée à une base de données en expansion continue où une séquence peut être comparée à celle de tout autre gène d'ARNr connus ou qui seront séquencées dans le futur. Or, l'objectif dans la plupart des études d'analyse de séquences ARNr n'est pas seulement d'identifier les isolats bactériens mais aussi de déterminer les relations phylogénétiques entre les organismes étudiés. La relation phylogénétique des séquences de nos souches avec les séquences d'ADNr 16S de 22 souches de bactéries présentant la similarité la plus élevée est représentée sur la Figure 9. L'arbre phylogénétique a été généré par le programme Tree Dyn (v198.3) proposé par Méthodes et Algorithmes pour la Bioinformatique LIRMM. La souche A1-1 est nommée *Bacillus sp.* A1-1 alors que la souche A3-1 est nommée *Bacillus megaterium* A3-1. (http://phylogeny.lirmm.fr/phylo_cgi/simple_phylogeny.cgi)

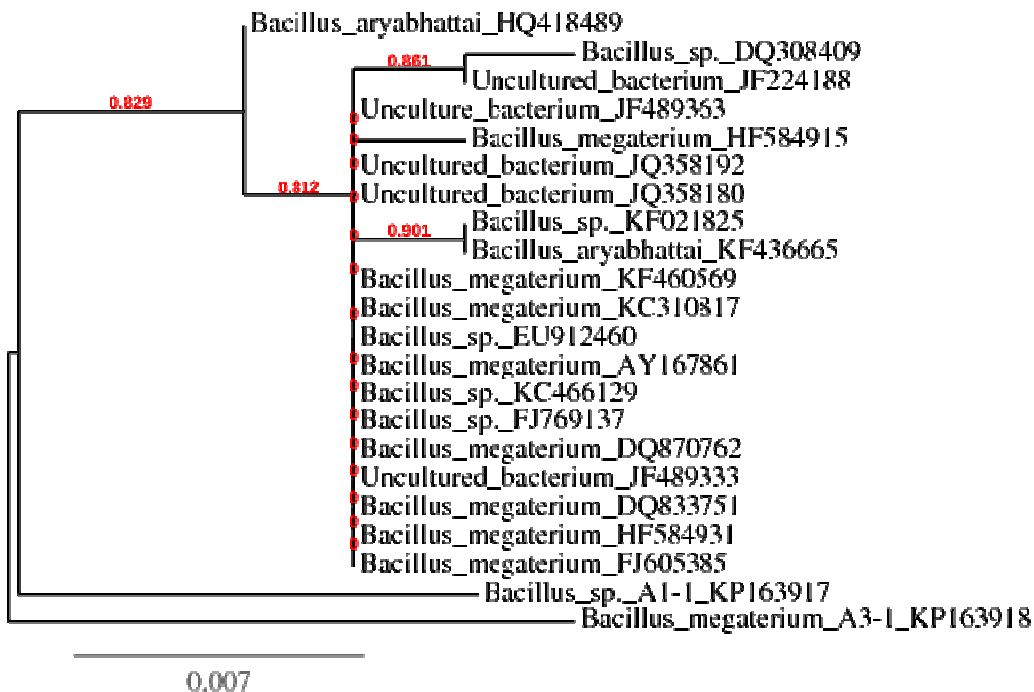


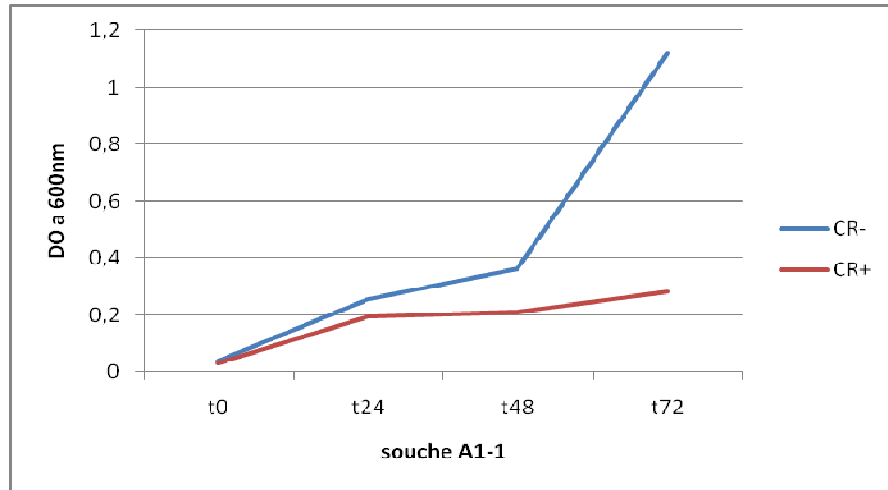
Figure 08: Relation phylogénétique des séquences de *Bacillus sp.* A1-1 et *Bacillus megaterium* A3-1 avec les séquences de l'ADNr 16S des 22 bactéries les plus similaires. Le dendrogramme a été généré par le programme Tree Dyn (v198.3).

IV.4 Effet du chrome sur la croissance bactérienne

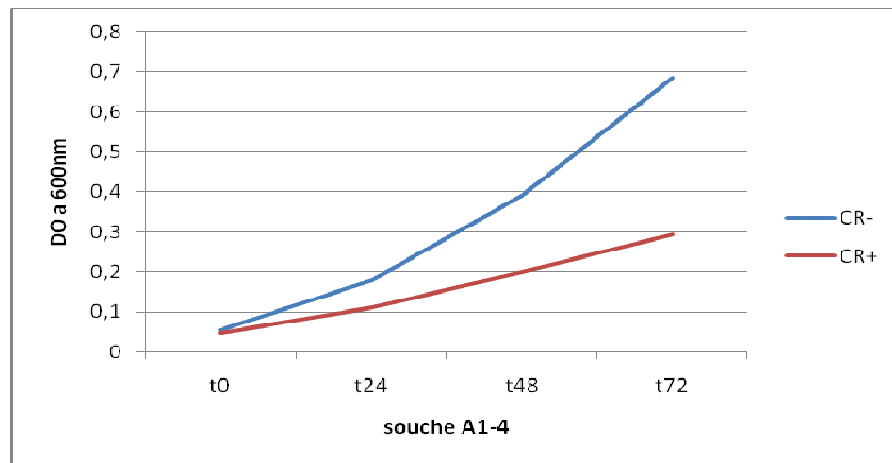
Ce test permet de montrer l'effet du chrome, sur la croissance bactérienne des souches (*Bacillus sp.* A1-1, *Bacillus sp.* A1-4 et *Bacillus megaterium* A3-1), les mesure de la densité optique à 600 nm, on été réalisées sur une durée de 72h à raison d'une mesure chaque 24h. Les résultats de l'effet du chrome (40 mg/l) sur la croissance des souches bactériennes sélectionnées sont représentés dans la **figure 09**.

Résultats et Discussion

D'après la **figure 09**, la croissance bactérienne des trois souches étudiées (*Bacillus sp* A1-1, *Bacillus sp* A1-4 et *Bacillus megaterium* A3-1) était nettement plus importante, en absence de chrome qu'en présence de ce dernier. Le calcul du taux de croissance le démontre aussi bien, comme on peut le voir dans le **tableau 04**.

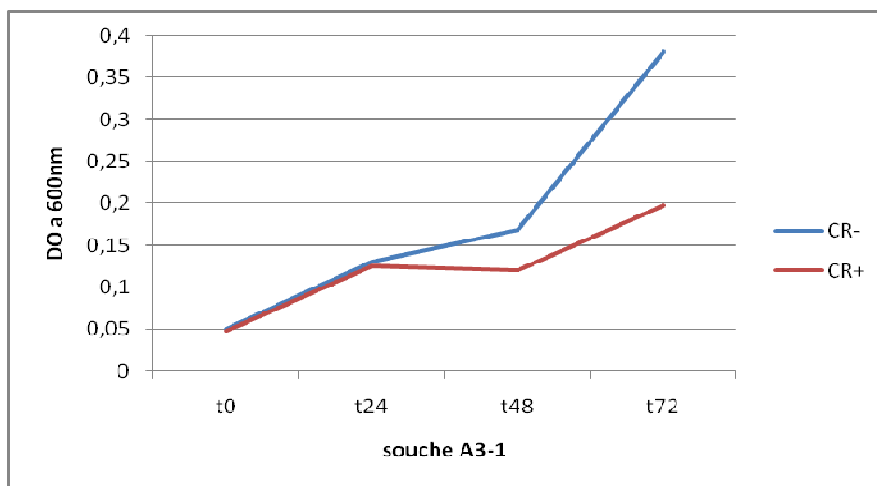


(a)



(b)

Résultats et Discussion



(c)

Figure 09: Effet du chrome (40 mg/l) sur la croissance des 3 souches sélectionnées, dans du bouillon nutritif et incubées à 37 °C. (a) souche *Bacillus sp* A1-1, (b) souche *Bacillus sp* A1-4, (c) souche *Bacillus megaterium* A3-1.

Tableau 04: Le taux de croissance (h^{-1}) des trois cultures avec et sans chrome en fonction du temps.

Temps	T24h		T48h		T72h	
	+	-	+	-	+	-
Souche : A1-1	0.21	0.23	0.11	0.17	0.10	0.39
Souche : A1-4	0.05	0.09	0.06	0.12	0.07	0.16
Souche : A3-1	0.06	0.03	0.03	0.04	0.04	0.08

- : absence de chrome

+ : présence de chrome

Les résultats après 72h d'incubation des trois souches, montrent que le chrome réduit la croissance bactérienne d'environ 65%. Ces résultats sont en accord avec les travaux d'**Athanasios et al (2001)**, qui ont étudié l'effet de chrome (VI) sur la cinétique de croissance bactérienne des

souches hétérotrophes isolées d'une boue activée. Ils ont trouvé que la présence de 1 mg/L de chrome, dans une boue activée âgée de 2 jours, inhibait de 60% la croissance des microorganismes hétérotrophes. **Garbisu et al (1998)**, ont aussi rapporté qu'une concentration de 52 mg/L de chrome affecte significativement la croissance bactérienne de la souche *Bacillus subtilis* et une concentration de 104 mg/L rend la croissance de la souche très difficile et affaiblie donc sa capacité à réduire le chrome.

Selon **Ross et al (1981)**, à de fortes concentrations, le Cr (VI) a des effets toxiques et mutagènes, il altère le matériel cellulaire, le métabolisme et les réactions physiologiques, les auteurs ont rapporté que 10 à 12 mg de Cr (VI) par litre peuvent inhiber le développement des bactéries du sol, alors que les mêmes concentrations en chrome (III) n'ont aucun effet sur la croissance des mêmes bactéries.

IV.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Ce test permet de déterminer le seuil de résistance des souches bactériennes sélectionnées pour l'étude (*Bacillus sp* A1-1, *Bacillus sp* A1-4 et *B. megaterium* A3-1), à la toxicité du chrome. Comme indiqué dans le test précédent (IV.4), le chrome réduit d'une manière importante la croissance des souches bactériennes. Le test de la CMI permet de déterminer la concentration minimale, pour laquelle l'inhibition de la croissance microbienne est totale. Les valeurs de la CMI obtenues pour les souches (*Bacillus sp*) A1-1, (*Bacillus sp*) A1-4 et (*Bacillus megaterium*) A3-1 sont, respectivement les suivantes : 140 mg/L, 120 mg/L et 180 mg/L (**tableau 05**).

Ces résultats sont en concordance avec ceux de **Soha et Sahar (2010)** qui ont remarqué que la croissance bactérienne de deux souches du genre *Bacillus*, était affectée après addition d'une concentration de 40 mg/L de chrome dans le milieu. Tout fois les deux souches résistaient au chrome, et se développaient encore même à des concentrations plus élevées, allant jusqu'à la concentration de 100 mg/L, où la croissance microbienne devient très faible et très perturbée. **Garbisu et al (1998)**, ont rapporté aussi qu'une concentration de 52 mg/L de chrome affecte significativement la croissance bactérienne de la souche *Bacillus subtilis* et une concentration de 104 mg/L rend la croissance de la souche, très difficile et par conséquent, affaiblie sa capacité à réduire le chrome.

Nos résultats sont aussi en accord avec les travaux de **Srinath et al (2001)**, les auteurs ont trouvé que sur 71 souches microbiennes isolées des effluents de la tannerie, seulement 11 d'entre elles étaient en mesure de tolérer des concentrations supérieures à 100 mg/L de Cr (VI), les autres souches avaient une CMI inférieure à 100 mg/L. Les mêmes auteurs rapportent que parmi les 71

Résultats et Discussion

souches, deux d'entre elles étaient *Bacillus megaterium* et *Bacillus circulans* et avaient des CMI de 170 mg/L et 130 mg/L, respectivement.

Tableau 05: Valeurs de la densité optique (DO) mesuré à 600nm pour les cultures A1-1, A3-1 et A1-4 (test de la CMI)

	[Cr6+] mg/l	A 1-1			A 3-1			A 1-4		
		t ₀	t ₂₄	t ₀ -t ₂₄	t ₀	t ₂₄	t ₀ -t ₂₄	t ₀	t ₂₄	t ₀ -t ₂₄
1	20	0,04	0,094	0,054	0,055	0,125	0,070	0,074	0,101	0,027
2	40	0,014	0,110	0,096	0,077	0,134	0,057	0,018	0,075	0,057
3	60	0,006	0,075	0,069	0,008	0,024	0,016	0,041	0,096	0,055
4	80	0	0,090	0,090	0,025	0,095	0,070	0,076	0,194	0,118
5	100	0,014	0,116	0,102	0,067	0,124	0,057	0,055	0,127	0,072
6	120	0,006	0,147	0,141	0,018	0,095	0,077	0,063	0,057	-0,006
7	140	0,012	-0,011	-0,023	0,056	0,141	0,085	0,028	0,028	0,000
8	160	0,007	0,007	0,000	0,084	0,162	0,078	0,062	0,054	-0,008
9	180	0,006	-0,002	-0,008	0,006	0,008	0,002	0,045	0,042	-0,003
10	200	0,012	-0,016	-0,028	0,064	0,056	-0,008	0,052	0,052	0,000
11	220	-0,005	0,015	0,020	-0,008	-0,009	-0,001	0,047	0,043	-0,004
12	240	0,073	0,066	-0,007	0,072	0,069	-0,003	0,063	0,060	-0,003
13	260	-0,017	0,019	0,036	0,078	0,075	-0,003	0,023	0,023	0,000
14	280	0,061	0,064	0,003	0,062	0,062	0,000	0,074	0,075	0,001
15	300	0,036	-0,005	-0,041	0,094	0,090	-0,004	0,008	0,122	0,114

IV.6 Analyse de l'élimination du chrome dans le bouillon nutritif :

Ce test permet d'étudier la capacité des trois souches (*Bacillus sp* A1-1, *Bacillus sp* A1-4 et *Bacillus megaterium* A3-1) à réduire le Cr (VI), dans du bouillon nutritif, en présence d'une concentration initiale de 50 mg/L de Cr (VI). L'élimination de ce dernier par les souches, était suivie en mesurant sa concentration par SAA, AA-6200 de marque SHIMADZU sur une durée de 72h, à raison d'une mesure toutes les 24h. Ces mesures nous ont permis de voir, l'évolution de la concentration du chrome dans le temps (**figure 10**), et l'évolution des taux de réductions (**figure 11**), et le pourcentage de réduction final pour chaque cultures en t_{72h}, (**Annexe 13**).

Résultats et Discussion

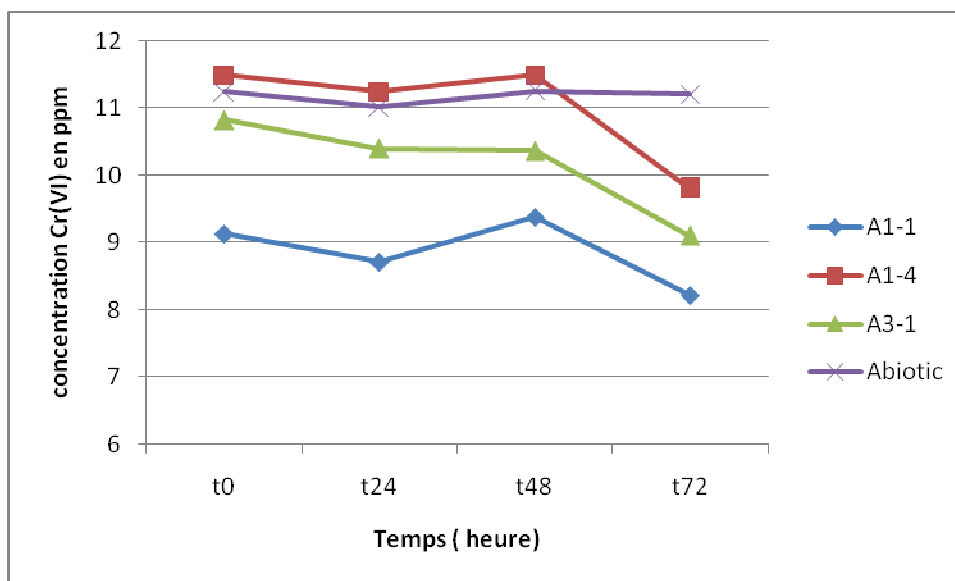


Figure 10: Evolution de la concentration du chrome dans le temps, incubé à 37 C⁰ sous agitation, dans du bouillon nutritif avec un inoculum de 2% pour chaque cultures, concentration initial en Cr(VI) de 50 mg/L.

Tableau 06: Evolution de la concentration du chrome en milieu nutritif en présence des 3 souches sélectionnées.

Concentration Cr(VI) ppm / temps	Abiotique	A1-1	A1-4	A3-1
t0	11,248	9,139	11,4935	10,826
t24	12,021	8,7165	11,248	10,4045
t48	12,46	9,3845	11,494	10,369
t72	12,91	8,2245	9,8065	9,1035

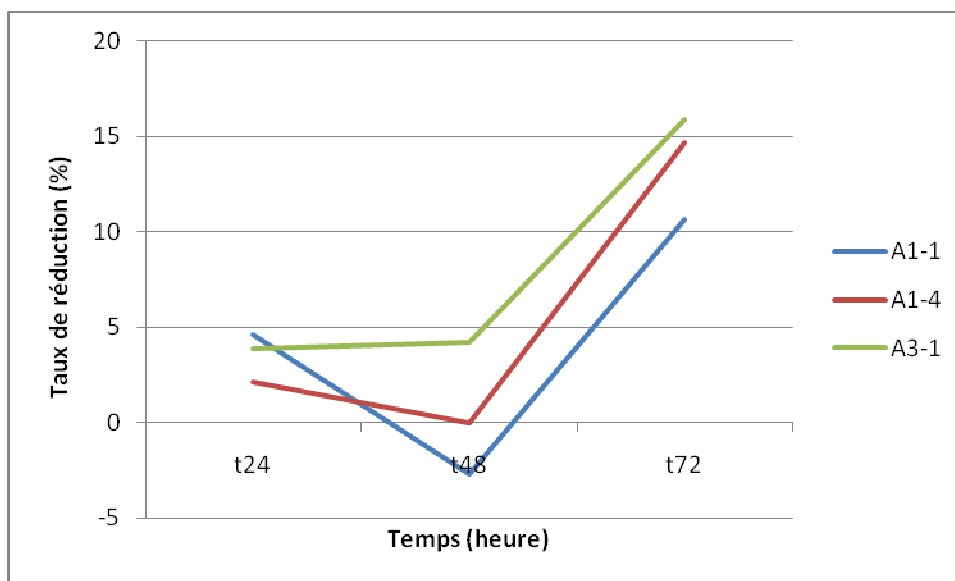


Figure 11: Evolution du taux d'élimination du chrome dans le temps par les trois cultures sélectionnées.

A partir des résultats montrés dans la **figure 10**, on constate que la diminution du chrome pour les trois souches, était très faible voir quasi nulle durant les premières 48h d'incubation (**voir aussi figure 11**), ce qui pourrait correspondre à une période de latence, durant laquelle les souches microbiennes préparent leur matériel enzymatique, pour dégrader le chrome, à partir de t_{48h} les souches entrent dans une phase d'élimination plus importante du chrome, bien visible dans la **figure 10**, ainsi que dans la **figure 11** relative au taux d'élimination, l'allure des ces deux courbes (**figures 10 et 11**), sont similaires à celles obtenus par **Katragadda et al (2013)**, dans l'étude de l'élimination du chrome (50 mg/l), pour les souches *Ochrobactrum anthropi* et *Chromobacterium violaceum*, où on remarque une augmentation exponentielle du pourcentage de réduction du chrome après 48 h d'incubation à 37 °C. **Srinath et al (2001)** ont rapporté que la phase de latence devient encore plus prolongée à partir d'une concentration de 100 mg/l de Cr (VI) pour les souches *Bacillus megaterium* et *Bacillus circulans*.

Les pourcentages d'élimination du chrome après 72h d'incubation, pour les trois cultures *Bacillus.sp* A1-1, *Bacillus.sp* A1-4 et *Bacillus megaterium* A3-1, comme montrés dans l'**Annexe 13**, sont respectivement 10.69%, 14.67% et 15.91%. Ces valeurs sont plus faibles que celles obtenus par **Katragadda et al (2013)** qui ont trouvé une réduction du chrome de 28% et de 44% après 72 h d'incubation, pour une concentration initiale de 50mg/l.

De même **Zahoor et Rehman (2008)** ont trouvé également que *Bacillus sp* et *Staphylococcus capitis* étaient capables de réduire avec 77% et 65% respectivement, une concentration de 100mg/l en chrome, Parallèlement **Srinath et al (2001)** ont rapporté que l'espèce *bacillus*

megaterium était capable d'accumuler 34.5 mg Cr/g, pour une concentration initiale de 50 mg/l, soit un taux d'élimination de 76%.

Les résultats que nous avons obtenus pour le test d'élimination du chrome, sont plus faibles que ceux obtenus par plusieurs auteurs, mais elles sont statistiquement équivalentes, après application du test d'équivalence de Mood. La différence entre nos résultats et ceux rapportés par les auteurs peut avoir plusieurs explications, les plus pertinentes sont celles relatives aux conditions d'expérimentations. De ce fait l'optimisation des paramètres physico-chimiques de l'élimination du métal, serait d'une grande importance. Dans ce contexte, **Paknikar et al (1999)** ont rapporté que le pH, est un facteur qui a une influence importante sur le phénomène de biosorption, certaines souches sont plus actives dans un milieu basique, alors que d'autres sont plus actives dans un milieu acide, De même **Shakoori et al (2000)**, ont rapporté que le pH optimal de réduction du Cr (VI) pour les bactéries gram-positives était égal à 9, tandis que **Liu et al (2004)**, ont constaté que le pH optimal pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus coagulans* était égale à 7. D'autre part, **Omar et al (1997)** rapportent que la biosorption par les cellules mortes était plus importante que par les cellules vivantes chez *Myxococcus xanthus* et *Saccharomyces cerevisiae* pour de nombreux métaux lourds, y compris le chrome, **Srinath et al (2001)** proposent également l'utilisation de cellules mortes pour augmenter la biosorption du Cr (VI) de 20% par rapport à leurs homologues vivantes. Dans une autre étude, **Cheung et Ji-Dong (2004)** ont rapporté aussi qu'un taux de salinité élevés du milieu inhibe la réduction du chrome par *Bacillus megaterium*.

IV.7 Application des souches dans le traitement des eaux usées de la tannerie de Jijel

Le traitement des eaux usées de la tannerie, par l'application des souches *Bacillus sp* A1-1, *Bacillus sp* A1-4 et *Bacillus megaterium* A3-1, permet de tester l'efficacité des souches, dans la bioremédiation du chrome issu de l'industrie du tannage. L'application simultanée des trois souches, à donné un taux d'élimination de 16.25% en 72h, alors que le contrôle (sans inoculum), n'a montré aucune diminution de la concentration initiale du chrome comme le montre le **tableau 07**.

Tableau 7: Effet de la bioaugmentation par la culture mixte (A1-1, A1-4 et A3-1) sur la diminution du taux de chrome dans l'effluent industriel de la tannerie, incubation à 37 °C avec agitation modérée.

concentration Temps	[Cr6+]/ppm	
	inoculum-	inoculum+
T0	0,2812	0,2812
T72	0,3093	0,2355
% de réduction	/	16,25

Ces résultats montrent que non seulement notre consortium, composé des souches *Bacillus sp* A1-1, *Bacillus sp* A1-4 et *Bacillus megaterium* A3-1, était capable de survivre dans des eaux usées contaminées par le chrome, mais il est aussi relativement capable de décontaminer l'effluent en réduisant la concentration du chrome. Ce taux d'élimination est pratiquement égal à celui obtenu dans le test d'élimination du chrome pour chaque souche. Plusieurs chercheurs ont aussi rapporté sur la réduction directe du Cr (VI) dans des effluents contaminés (**Ohtake et Hardoyo, 1991; Ganguli et Tripathi, 2002**), les résultats rapportés font apparaître que les taux de réduction des souches appliquées sur l'effluent, sont pratiquement égaux à ceux obtenus pour la réduction d'une concentration du chrome dans un milieu nutritif (**Zahoor et Rehman, 2008; Amrik et Anshu, 2013**). Les souches bactériennes A1-1, A1-4 et A3-1 sont donc des souches qui ont un grand potentiel dans le domaine de la bioremediation, le genre *Bacillus* que nous avons isolé et étudié dans notre travail, est largement rapporté dans la littérature scientifique, dans le domaine de la bioremediation (**Wang et al, 2000; Srinath et al, 2001; Cheung et Ji-Dong, 2004; Soha et Sahar, 2010**). En ce qui concerne la souche *Bacillus megaterium* (A3-1), cette dernière est largement utilisée en bioprocédés, elle est rapportée par plusieurs auteurs dans le domaine de la bioremediation pour une large gamme de polluants notamment les pesticides et les hydrocarbures (**Bouderhem, 2011**).

Conclusion

V Conclusion

Notre étude était principalement portée, sur l'élimination du chrome par des souches bactériennes résistantes, choisies et sélectionnées après un test de screening. L'ensemble des souches étudiées, était isolé à partir d'une boue activée, en provenance de la station d'épuration de la tannerie de Jijel.

Le test de screening et l'étude de la CMI nous ont permis de comprendre qu'une flore résistante au chrome, s'est développée au fil du temps, dans les bassins d'aération de la station d'épuration de la tannerie de Jijel, et qui à un grand intérêt dans le domaine de l'épuration des eaux contaminées.

L'étude a permis de démontrer que le chrome, qui est un polluant toxique de l'environnement, réduisait d'environ 65%, la croissance bactérienne de nos souches.

L'identification moléculaire, nous a confirmé que la souche *Bacillus megaterium*, qui est une souche très résistante aux polluants et utilisée en bioremediation, figure parmi les souches résistantes que nous avons pu isoler, les autres souches appartenaient au genre *Bacillus*.

L'analyse de la réduction du chrome dans un milieu nutritif nous à donné des résultats plus faibles que ceux rapportés par d'autre auteurs, ce qui nous incite à étudier, les paramètres physico-chimiques qui jouent un rôle très important dans la bioremediation, dans un système en batch.

L'application des souches dans le traitement des eaux usées, a montré que non seulement les souches A1-1(*Bacillus sp*), (*Bacillus sp*) A1-4 et A3-1(*Bacillus megaterium*) sont capables de survivre dans des eaux polluées par le chrome, mais aussi capables de réduire la concentration de ce dernier, et cela par différents moyens, probablement par son intégration dans leur métabolisme, ou par bioaccumulation.

En définitif, ce travail se veut comme une première approche technique et scientifique de la bioremediation, il ouvre des perspectives nouvelles dans ce grand domaine d'investigation, notamment par l'étude des paramètres optimales de bioremediation pour chaque souche, l'application des souches résistantes à d'autres métaux lourds, voire d'autres polluants de l'environnement. L'utilisation des souches bactériennes dans la bioremediation nécessite aussi une certaine technologie, d'ou l'intérêt des études de faisabilité et des études technico-économiques.

Références
Bibliographiques

VI Références bibliographique

A

Abhilash PC, Jamil S et Singh N. 2009. Transgenic plants for enhanced biodegradation and phytoremediation of organic xenobiotics. *Biotechnology Advances*. 27(4):474–488.

Adriano DC. 2001. Trace Metals in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals, Springer-Verlag, New York, pp. 866 Second edition.

Alam MZ et Ahmad S. 2011. Chromium removal through biosorption and bioaccumulation by bacteria from tannery effluents contaminated soil. *Clean-Soil, Air, Water*. 39(3): 226–237.

Amrik B et Anshu G. 2013. Evaluation of *Acinetobacter* sp. B9 for Cr (VI) resistance and detoxification with potential application in bioremediation of heavy-metals-rich. *Industrial wastewater* 20 : 6628–6637.

Aoun M. 2008. Action du cadmium sur les plants de moutarde indienne [*Brassica juncea* (L.) Czern] néoformés à partir de couches cellulaires minces et issus de semis. Analyses physiologiques et rôle des polyamines. (Thèse de doctorat). Université de Bretagne Occidentale.

Athanasios S, Stasinakisa, Daniel Mamaisb, Nikolaos S, Thomaidisa, Themistokles D et Lekkasa. 2001. Effect of chromium(VI) on bacterial kinetics of heterotrophic biomass of activated sludge ;*Water Research* 36: 3341–3349.

B

Bamforth SM et Singleton I. 2005. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 80: 723–736.

Barceloux DG et Barceloux D. 1999. "Chromium". *Clinical Toxicology* 37 (2): 173–194

Barkay T et Schaefer J. 2001 Metal and radionuclide bioremediation: issues, considerations and potentials. *Current Opinion in Microbiology* 4: 318-323

Barragán-Huerta BE, Costa-Pérez C, Peralta-Cruz J, Barrera-Cortés J, Esparza-García F et Rodríguez-Vázquez R. 2007. Biodegradation of organochlorine pesticides by bacteria grown in microniches of the porous structure of green bean coffee. *International Biodeterioration and Biodegradation*.59 : 239–244.

Références bibliographique

Bouderhem A. 2011. Utilisation des souches bactériennes telluriques autochtones dans la biodetection et la bioremediation des sols pollués par les hydrocarbures. (Thèse de magister). Université Kasdi Merbah-Ouargla

Bradl HB. 2005. Heavy Metals in the Environment. Elsevier Academic Press. Volume 6. Nombre de pages 270: 0-12-088381-3.

Branco R, Chung AP, Veríssimo A et Morais PV. 2005. Impact of chromium-contaminated wastewaters on the microbial community of a river. FEMS Ecology. 54:35–46.

Bruins M, Kapil M et Oehme FW. 2000. Microbial Resistance to Metals in the Environment. Ecotoxicology and Environmental Safety. 45: 198-207.

C

Calomiris JJ, Armstrong JL et Seidler AJ. 1984. Association of Metal Tolerance with Multiple Antibiotic Resistance of Bacteria Isolated from Drinking Water. Applied and Environmental Microbiology. 47: 1238-1242

Camargo FA, Okeke BC, Bento FM et Frankenberger WT. 2003. In vitro reduction of hexavalent chromium by a cell-free extract of *Bacillus sp.* ES 29 stimulated by Cu²⁺. Applied Microbiology and Biotechnology. 62:569–573.

Castoldi AF, Coccini T et Manzo L. 2003. Neurotoxic and molecular effects of methyl-mercury in humans. Environmental Health Perspectives. 18: 19–31.

Chaillou S, Combrisson j, « BIODÉPOLLUTION », Encyclopædia Universalis [en ligne], consulté le 8 novembre 2013. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/biodepollution/>.

Chang J. 1997. Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21. Water Research. 31: 1651-1658.

Cheng Y, Holman H-Y et Lin Z. 2012. Minerals, microbes, and remediation: Remediation of chromium and uranium contamination by microbial activity elements. 8:107-112.

Cheung KH et Gu J-D. 2004. Chromate reduction by *Bacillus megaterium* TKW3 isolated from marine sediments . World Journal of Microbiology and Biotechnology. 21: 213–219.

Références bibliographique

Cheung KH et Gu J-D. 2007. Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A review. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 59: 8–15.

Cheung KH et Gu J-D. 2007. Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: a review. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 59:8–15.

Cho Y S, Kahng HY, Kim CK, Kukor JJ, et Oh KH. 2002. Physiological and cellular responses of the 2,4-D degrading bacterium, *Burkholderia cepacia* YK-2, to the phenoxyherbicides 2,4-D and 2,4,5-T. *Current Microbiology*. 45(6): 415–422.

Codd R, Rillon CT, Levina A et Lay PA. 2001. Studies on the genotoxicity of chromium: from the test tube to the cell. *Coordination Chemistry Review*. 216,217:537–582.

Costa M et Klein CB. 2006. Toxicity and carcinogenicity of chromium compounds in humans. *Critical Review Toxicology*. 36:155-63.

Costa M. 2003. Potential hazards of hexavalent chromium in our drinking water. *Toxicology and Applied Pharmacology*.188:1–5.

D

Dabonne S, Koffi B, Kouadio E, Koffi A, Due E et Kouame L. 2010. Traditional utensils: Potential sources of poisoning by heavy metals. *British Journal of Pharmacology*. 1: 90–92.

Delarras C, 2007. *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*, Technique Et Documentation, nombre de pages 476 : 2743009454

Doshi H, Arabinda R et Kothari IL. 2008. Bioremediation potential of *Chlorella*: spectroscopic, kinetics, and SEM studies. *International Journal of Phytoremediation*. 10(4): 264–277.

Duffus JH. 2002. “Heavy metal” – a meaningless term? *Pure Appl Chem* 74:793–807

E

Eary LE et Rai D. 1989. Kinetics of chromate reduction by ferrous ions derived from hematite and biotite at 25 degrees C. *American Journal Science*. 289:180–213.

F

Fendorf SE. 1995. Surface reactions of chromium in soils and waters. *Geoderma*. 57-65–71.

Fisher NS et Froid D. 1980. Heavy metals and marine diatoms influence of dissolved organic compounds on toxicity and selection for metal tolerance among four species. *Marine Biology*. 59(2): 85-93.

Focardi S, Pepi M, Landi G, Gasperini S, Ruta M, Di Biasio P et Focardi SE. 2012. Hexavalent chromium reduction by whole cells and cell free extract of the moderate halophilic bacterial strain *Halomonas sp.* TA-04. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 66: 63–70.

Focardi S, Pepi M, Ruta M, Marvasi M, Bernardini E, Gasperini S et Focardi SE. 2010. Arsenic precipitation by an anaerobic arsenic-respiring bacterial strain isolated from polluted sediments of the Orbetello Lagoon, Italy. *Letters in Applied Microbiology*. 51:578-585.

Fornarini L, Colao F, Fantoni R, Lazic V et Spizzicchino V. 2005. Calibration analysis of bronze samples by nanosecond laser induced breakdown spectroscopy: A theoretical and experimental approach. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*. 60:1186–1201.

Fountoulakis MS, Dokianakis SN, Kornaros ME, Aggelis GG et Lyberatos G. 2002. Removal of phenolics in olive mill wastewaters using the white-rot fungus *Pleurotus*. *Water Research*, 36(19):4735-44.

Francisco R, Moreno A et Vasconcelos Morais P. 2010. Different physiological responses to chromate and dichromate in the chromium resistant and reducing strain *Ochrobactrum tritici* 5b v 11. *BioMetals*. 23 :713-725.

G

Gadd GM et Smith WL. 2000. Reduction and precipitation of chromate by mixed culture sulphate-reducing bacterial biofilms. *Journal of Applied Microbiology*. 88: 983 – 991.

Gadd GM. 1992. Metals and microorganisms: a problem of definition. *FEMS Letters*. 79: 197- 203.

Gadd GM. 2010. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology*. 156(3):609–643.

Références bibliographique

Gale NL. 1986. The role of algae and other microorganisms in metal detoxification and environmental clean-up. *Biotechnology and Bioengineering*. 16: 171–180.

Garbisu C, Alkorta I, Llama MJ et Serra JL. 1998. Aerobic chromate reduction by *Bacillus subtilis*. *Biodegradation*. 9:133–41.

Gavrilescu M. 2004. Removal of heavy metal from the environment by biosorption. *Engineering in Life Science*. 4(3):219–232.

Garima M et Dhiraj S. 2013. bioremediation of Cr(VI) metal ion from aqueous solutions using modified lignocellulosic agricultural waste biomass. *International Journal of Advanced Technology and Engineering Research*. 3:2250-3536.

Gehong W, Lianmei F, Wenfei Z, Yunyun F, Jianfu Y et Ming T. 2009. Isolation and characterization of the heavy metal resistant bacteria CCNWRS33-2 isolated from root nodule of *Lespedeza cuneata* in gold mine tailings in China. *Journal of Hazardous Materials*. 162: 50–56.

Ghosh S. 2010. Wetland macrophytes as toxic metal accumulators. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 1:523–528.

Gibb HJ, Lees PS, Pinsky PF et Rooney BC. 2000. Lung cancer among workers in chromium chemical production. *American Journal of Industrial Medicine*. 38:115–126.

Gibb HJ, Lees PS, Pinsky PF et Rooney BC. 2000. Clinical findings of irritation among chromium chemical production workers. *American Journal of Industrial Medicine*. 38:127–131.

Göhre V et Paszkowski U. 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta*. 223: 1115–1122.

Greenan Allel K. 2011. Metallothioneins, a diverse protein family. *Plant Physiology*. 155(4):1750–1751.

Gupta VK, Carrott PJM, Carrott MMLR et Suhas TL. 2009. Low-cost adsorbents: growing approach to wastewater treatment: review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 39:783–842.

H

Haferburg G et Kothe E. 2007. Microbes and metals: interactions in the environment. *Journal of Basic Microbiology*. 47: 453–467.

Références bibliographique

Hazrat A, Ezzat K et Sajad M. 2013. Phytoremediation of heavy metals Concepts and applications. *Chemosphere*. 91: 869–881.

Henderson KL, Belden JB et Coats JR. 2007. Fate of atrazine in a grassed phytoremediation system. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 26(9):1836–1842.

Hobman JL, Yamamoto K et Oshima T. 2007. Transcriptomic Responses of Bacterial Cells to Sublethal Metal Ion Stress. In: *Molecular Microbiology of Heavy Metals*. D.H. Nies, S. Silver: Editors. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

I

Ishibashi Y, Cervantes C et Silver S. 1990. Chromium reduction in *Pseudomonas putida*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 56: 2268-2270.

Islam E, Yang XE, He ZL et Mahmood Q. 2007. Assessing potential dietary toxicity of heavy metals in selected vegetables and food crops. *Journal of Zhejiang University Science Biomedicine et Biotechnology*. 8: 1-13.

J

James BR. 2002. Chemical transformations of chromium in soils relevance to mobility, bioavailability and remediation: The Chromium File; 8 8 p.

Ji G, et Silver S. 1995. Bacterial resistance mechanisms for heavy metals of environmental concern. *Journal of Indian Microbiology*. 14: 61–75.

Johri AK, Dua M, Tuteja D, Saxena R, Saxena DM, et Lal R. 1996. Genetic manipulations of microorganisms for the degradation of hexachlorocyclohexane. *Federation of European Microbiological Societies Review*. 19: 69–84.

K

Kaimoussi A, Mouzdahir A et Saih A. 2005. Seasonal Variations of Metal Concentrations (Cd, Cu, Fe, Mn and Zn) in Algae *Fucus spiralis* from the Coast of El Jadida City (Morocco). *Water Quality Research Journal of Canada*. 40:102–110.

Kamaludeen SPB, Arunkumar KR, Avadainayagam S et Ramasamy K. 2003. Bioremediation of chromium contaminated environments. *Indian Journal of Experimental Biology*. 41: 972–985.

Références bibliographique

Katragadda S, Kondate R, Sakunthala P, Arvind Si et Meenakshi S. 2013. Detoxification And Bioremediation Of Chromium (VI) From The Tannery Effluents. *International Journal of ChemTech Research*. 5:2177-2185.

Katz SA et Salem H. 1993. The toxicology of chromium with respect to its chemical speciation: a review. *Journal of Applied Toxicology*. 13:217–224.

Khan S, Hesham AE-L, Qiao M, Rehman S et He J-Z. 2010. Effects of Cd and Pb on soil microbial community structure and activities. *Environmental Science and Pollution Research*. 17 :288–296.

Kiran B, Kaushik A et Kaushik CP . 2007. Biosorption of Cr (VI) by native isolate of *Lyngbya putealis* (HH-15) in the presence of salts. *Journal of Hazardous Materials*.141:662–667.

Komori K, Rivas A, Toda K et Ohtake HA. 1990. method for removal of toxic chromium using dialysis-sac cultures of a chromate-reducing strain of *Enterobacter cloacae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 33:91-121.

Kumar A, Kumar S et Kumar S. 2005. Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194. *Biochemical Engineering Journal*. 22:151–159.

L

Langard S. 1990. One hundred years of chromium and cancer: a review of epidemiological evidence and selected case reports. *American Journal of Industrial Medicine*. 17:189–214.

Langley S et Beveridge TJ. 1999. Effect of O-side chain-, Lipopolysaccharide chemistry on metal binding. *Applied and Environmental Microbiology*. 65 (2):489–498.

Lebeau T, Braud A et Jézéquel K. 2008. Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils: A review. *Environmental Pollution*. 153:497-522.

Lebedeva EV et Lyalikova NN. 1979. Reduction of chrocoite by *Pseudomonas chromatophila* sp. nov. *Mikrobiologiya*. 48:517–522.

Ledin M. 2000. Accumulation of metals by micro-organisms processes and importance for soil systems. *Earth-Science Reviews*. 51:1-31.

Références bibliographique

Lee SW, Glickmann E et Cooksey DA. 2001. Chromosomal locus for cadmium resistance in *Pseudomonas putida* consisting of a cadmium-transporting ATPase and a MerR family response regulator. *Applied and Environmental Microbiology*. 67:1437–1444.

Lidsky TI et Schneider JS. 2003. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates. *Brain*. 126:5-19.

Liu YG, Xu WH, Zeng GM, Tang CF et Li CF. 2004. Experimental study on reduction by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Environmental Sciences* 16(5):797– 801.

Liu Z, Wu Y, Lei C, Liu P et Gao M. 2012. Chromate reduction by a chromate-resistant bacterium, *Microbacterium sp.* *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 28:1585–1592.

Liu Z, Wu Y, Lei C, Liu P et Gao M. 2012. Chromate reduction by a chromate-resistant bacterium, *Microbacterium sp.* *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 28:1585–1592.

Losi ME et Frankenberger WT. 1994. Chromium-resistant microorganisms isolated from evaporation ponds of a metal processing plant. *Water Air and Soil Pollution*. 74:405–413.

M

Mabbett AN et Macaskie LE. 2001. A novel isolates of *Desulfovibrio sp.* with the enhanced ability to reduce Cr (VI). *Biotechnology Letters*. 23:683-687.

Machado MD, Soares HMVM et Soares EV. 2010. Removal of chromium, copper, and nickel from an electroplating effluent using a flocculent brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Water Air Soil Pollution*. 212:199–204.

Markandey DK, Maiti SK, Makhijani SD et Rajvaida M. 2002. In D. K. Markandey et N. R. Markandey (Eds.), *Microorganisms in bioremediation*. New Delhi: Capital.

Martello L, Fuchsman P, Sorensen M, Magar V et Wenning RJ. 2007. Chromium geochemistry and bioaccumulation in sediments from the lower Hackensack River, New Jersey. *Archive Environmental Contamination and Toxicology*. 53:337–350.

Matsumura F, Benzet H J et Patil KC. 1976. Factors affecting microbial metabolism of γ -BHC. *Journal of Pesticide Science*. 1:3–8.

Références bibliographique

Megharaj M, Avudainayagam S et Naidu R. 2003. Toxicity of hexavalent chromium and its reduction by bacteria isolated from soil contaminated with tannery waste. *Current Microbiology*. 47:51–54.

Memon AR, Schröder P. 2009. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*. 16:162–175.

Mergler D, Anderson HA, Chan LH, Mahaffey KR, Murray M, Sakamoto M et Stern AH. 2007. The panel on health risks and toxicological effects of methylmercury. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *Ambio*. 36: 3–11.

Monachese M, Burton JP et Reid G. 2012. Bioremediation and tolerance of humans to heavy metals through microbial processes: a potential role for probiotics *Applied and Environmental Microbiology*.78:6397-404.

Myers CR, Carstens BP, Antholine WE et Myers JM. 2000. Chromium(VI) reductase activity is associated with the cytoplasmic membrane of anaerobically grown *Shewanella putrefaciens* MR-1. *Journal of Applied Microbiology*. 88:98-106.

N

Naik UC, Srivastava S et Thakur IS. 2012. Isolation and characterization of *Bacillus cereus* IST105 from electroplating effluent for detoxification of hexavalent chromium. *Environmental Science and Pollution Research* 19:3005–3014.

Naithani V et Kakkar P. 2005. Evaluation of heavy metals in Indian herbal teas. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 75:197-203.

Nawaz K, Hussain K, Choudary N, Majeed A, Ilyas U, Ghani A et al 2011. Eco-friendly role of biodegradation against agricultural pesticides hazards. *African Journal of Microbiology Research*. 5(3):177–183.

Nieboer E et Richardson DHS. 1980. The replacement of the nondescript term « heavy metal » by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environmental Pollution*1:3-26.

Nies DH. 2003. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. *Federation of European Microbiological Societies Reviews*. 27: 313-339.

Nithya C, Gnanalakshmi B et Pandian SK. 2011. Assessment and characterization of heavy metal resistance in Palk Bay sediment bacteria. *Marine Environmental Research*. 71: 283-294.

Krieg RN, James T. Staley, Daniel R. Brown, Brian P. Hedlund, Bruce J. Paster, Naomi L. Ward, Wolfgang Ludwig et William B. Whitman. 2010. *BERGEY'S MANUAL OF Systematic Bacteriology*. Second Edition Volume 4.

O

Ohtake H et Hardoyo KJ. 1991. Effects of heavy metal cations on chromate reduction by *Enterobacter cloacae* strain HO1. *Journal of General Applied Microbiology*. 37:519.

Olguín EJ et Sánchez-Galván G. 2012. Heavy metal removal in phytofiltration and phycoremediation: the need to differentiate between bioadsorption and bioaccumulation. *New Biotechnology*.30:3-8.

Omar NB, Merroun ML, Penalver JMA et Munoz TG. 1997. Comparative heavy metal biosorption study of brewery yeast and *Myxococcus xanthus* biomass. *Chemosphere*. 35(10):2277–2283.

P

Pagès D, Sanchez L, Conrod S, Gidrol X, Fekete A, Schmitt-Kopplin P, Heulin T et Achouak W. 2007. Exploration of intracolonial adaptation mechanisms of *Pseudomonas brassicacearum* facing cadmium toxicity. *Environement Microbioly*. 9:2820-2835.

Paknikar KM, Puranik PR et Pethkar AV. 1999. Development of microbial Biosorbents-a need for standardizations of experimental protocols, in *Biohydrometallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21st Century, Part B: Molecular Biology, Biosorption, Bioremediation*, ed by Amils R, Ballester A, Elsevier, Amsterdam, pp. 363-373.

Pandey J, Chauhan A et Jain RK. 2009. Integrative approaches for assessing the ecological sustainability of in situ bioremediation. *FEMS Letters* 33:324–375.

Pang Y, Zeng G-M, Tang L, Zhang Y, Liu Y-Y, Lei X-X, Wu M-S, Li Z et Liu C. 2011. Cr (VI) reduction by *Pseudomonas aeruginosa* immobilized in a polyvinyl alcohol/sodium alginate matrix containing multi-walled carbon nanotubes. *Bioresource Technology*. 102:10733-10736.

Références bibliographique

Park CH, Keyhan M, Wielinga B, Fendorf S et Matin A. 2000. Purification to homogeneity and characterization of a novel *Pseudomonas putida* chromate reductase. *Applied and Environmental Microbiology*. 66:1788–1795.

Paul D, Pandey G, Pandey J et Jain RK. 2005. Accessing microbial diversity for bioremediation and environmental restoration. *Trends in Biotechnology*. 23(3):135–142.

Pawlik-Skowron´ska B. 2001. Phytochelatin production in freshwater algae *Stigeoclonium* in response to heavy metals contained in mining water; effects of some environmental factors. *Aquatic Toxicology*. 52:241-249.

Pazouki M, Keyanpour-Rad M, Shafie S et Shahhoseini S. 2007. Efficiency of *Penicillium chrysogenum* PTCC 5037 in reducing low concentration of chromium hexavalent in a chromium electroplating plant wastewater. *Bioresource Technology*. 98:2116–2122.

Pei QH, Shahir S, Raj ASS, Zakaria ZA et Ahmad WA. 2009. Chromium (VI) resistance and removal by *Acinetobacter haemolyticus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25:1085–1093.

Pesti M, Gazdag Z et Belágyi J. 2000. In vivo interaction of trivalent chromium with yeast plasma membrane as revealed by EPR spectroscopy. *Federation of European Microbiological Societies Letters* .182 :375-380.

Plaper A, Jenko-Brinovec S, Premzl A, Kos J et Raspor P.2002. Genotoxicity of trivalent chromium in bacterial cells. Possible effects on DNA topology. *Chemical Research in Toxicology*. 15:943–949.

Poljsak B, Pócsi I, Raspor P et Pesti M. 2010. Interference of chromium with biological systems in yeasts and fungi: a review. *Journal of Basic Microbiology*. 50:21–36.

Polti MA, Amoroso MJ et Abate CM. 2010. Chromate reductase activity in *Streptomyces* sp. MC1. *Journal of General and Applied Microbiology*. 56: 11-18.

Poopal AC et Laxman RS. 2009. Chromate reduction by PVA-alginate immobilized *Streptomycesgriseus* in a bioreactor. *Biotechnology Letters*. 31:71–76.

Q

Quievryn G, Messer J et Zhitkovich A. 2002. Carcinogenic chromium(VI) induces cross-linking of vitamin C to DNA in vitro and in human lung A549 cells. *Biochemistry*. 41: 3156-3167.

Quiévryn G, Peterson E, Messer J et Zhitkovich A. 2003. Genotoxicity and mutagenicity of chromium(VI)/ascorbate-generated DNA adducts in human and bacterial cells. *Biochemistry* 42:1062–1070.

R

Ramírez-Díaz MI, Díaz-Pérez C, Vargas E, Riveros-Rosas H, Campos-García J et Cervantes C. 2007. Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds. *BioMetals* . 21:321–332.

Rehman A, Shakoori FR et Shakoori AR. 2007. Heavy metal resistant *Distigma proteus* (*Euglenophyta*) isolated from industrial effluents and its possible role in bioremediation of contaminated wastewaters. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 23: 753–758.

Reynolds MF, Peterson-Roth EC, Bespalov IA, Johnston T, Gurel VM, Menard HL et Zhitkovich A. 2009. Rapid DNA double-strand breaks resulting from processing of Cr-DNA cross-links by both MutS dimers. *Cancer Researches*.69:1071–1079.

Roane TM et Pepper IL. 2000. Microbial responses to environmentally toxic cadmium. *Microbial Ecology*. 38(4):358–364.

Rodrigues S, Henriques B, Reis A, Duarte A, Pereira E et Römken PFAM. 2012. Hg transfer from contaminated soils to plants and animals. *Environmental Chemistry Letters*.10:61–67.

Ross DS et Bartlett Rj. 1981. Evidence of Non-microbial Oxidation of Manganese in soil. *Journal of Soil Science*. 132-153-160.

S

Saha R, Nandi R et Saha B. 2011. Sources and toxicity of hexavalent chromium. *Journal of Coordination Chemistry*. 64:1782–1806.

Sánchez-Chardi A, Ribeiro CAO et Nadal J. 2009. Metals in liver and kidneys and the effects of chronic exposure to pyrite mine pollution in the shrew *Crocidura russula* inhabiting the protected wetland of Doñana. *Chemosphere*. 76:387–394.

Sanz A, Llamas A et Ullrich CI. 2009. Distinctive phytotoxic effects of Cd and Ni on membrane functionality. *Plant Signal and Behaviour*. 4(10):980–982.

Références bibliographique

- Sarangi A et Krishnan C. 2008.** Comparison of in vitro Cr(VI) reduction by CFEs of chromate resistant bacteria isolated from chromate contaminated soil. *Bioresource Technology*. 99:4130-4137.
- Sarret G, Avoscan L, Carriere M, Collins R, Geoffroy N, Carrot F, Coves J et Gouget B. 2005.** Chemical Forms of Selenium in the Metal-Resistant Bacterium *Ralstonia metallidurans* CH34 Exposed to Selenite and Selenate. *Applied and Environmental Microbiology*. 71: 2331-2337.
- Saxena D, Gowri PM, Mago R et Srivastav S. 2001.** Removal of copper by *Pseudomonas putida* strain S4 isolated from copper mines. *Indian Journal of Experimental Biology*. 39(6):590–593.
- Saxena DK, Murthy RC, Jain VK et Chandra SV. 1990.** Fetoplacental-maternal uptake of hexavalent chromium administered orally in rats and mice. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*.45:430–435.
- Scarano G et Morelli E. 2002.** Characterisation of cadmium and lead-phytochelatin complexes formed in a marine microalga in response to metal exposure. *Biometals*. 15:145-151.
- Schiewer S, Volesky B et Lovley DR (eds).2000.** ASM Press, Washington, DC, pp 329–362
- Schmieman EA, Yonge DR, Rege MA, Petersen JN, Turick CE, Johnstone DL et al. 1998.** Comparative kinetics of bacterial reduction of chromium. *Journal of Environmental Engineering*. 124:449–455.
- Shakoori AR, Makhdoom M et Haq RU. 2000.** Hexavalent chromium reduction by a dichromate-resistant gram-positive bacterium isolated from effluents of tanneries. *Applied Microbiology and Biotechnology* 53:348–51.
- Sharma S et Adholeya A. 2011.** Detoxification and accumulation of chromium from tannery effluent and spent chrome effluent by *Paecilomyces lilacinus* fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 65:309–317.
- Shen H et Wang YC. 1993.** Characterization of enzymatic reduction of hexavalent chromium by *Escherichia coli* ATCC 33456. *Applied and Environmental Microbiology*. 59:3171-3777.
- Sheng XF, Xia JJ, Jiang CY, He LY et Qian M. 2008.** Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. *Environmental Pollution*. 156: 1164–1170.

Références bibliographique

Shi W, Becker J, Bischoff M, Turco RF et Konopka AE. 2002. Association of microbial community composition and activity with lead, chromium, and hydrocarbon contamination. *Applied and Environmental Microbiology*. 68:3859–3866.

Silver S, Schottel J et Weiss A. 2001. Bacterial resistance to toxic metals determined by extrachromosomal R factors. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 48:263–281.

Sisca OL, Novie F, Felycia ES, Sunarsob J et Suryadi I. 2009. Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and waste water. *Biochemical Engineering Journal*. 44:19–41.

Soha F et Sahar Z. 2010. Identification of bacterial strains from tannery effluent and reduction of hexavalent chromium. *Journal of Environmental Biology*. 31(5):877-882.

Srinath T, Verma T, Ramteke PW et Garg SK. 2001. Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria: *Chemosphere* 48:427–435

Srivastava S et Thakur IS. 2007. Evaluation of biosorption potency of *Acinetobacter sp.* for removal of hexavalent chromium from tannery effluent. *Biodegradation*. 18:637–646.

Sundar K, Vidya R, Amitava Mukherjee et Chandrasekaran N. 2010. High Chromium Tolerant Bacterial Strains from Palar River Basin: Impact of Tannery Pollution. 2041-0492.

T

Talley J. 2005. Introduction of recalcitrant compounds. In W. Jaferey et L. Talley (Eds.), *Bioremediation of recalcitrant compounds* (pp. 1–9). Boca Raton: CRC.

Teemu H, Seppo S, Jussi M, Raija T et Kalle L. 2008. Reversible surface binding of cadmium and lead by lactic acid and bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 125:170–175.

Tsuji N, Hirayanagi N, Okada M, Miyasaka H, Hirata K, Zenk MH et al. 2002. Enhancement of tolerance to heavy metals and oxidative stress in *Dunaliella tertiolecta* by Zn-induced phytochelatin synthesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 293:653–659.

V

Valko M, Morris H et Cronin MT. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medical Chemistry*. 12:1161–1208. 340.

Références bibliographique

Villegas LB, Fernández PM, Amoroso MJ et de Figueroa LIC. 2008. Chromate removal by yeasts isolated from sediments of a tanning factory and a mine site in Argentina. *Biometals*. 21:591–600.

W

Wada H, Senoo K et Takai Y. 1989. Rapid degradation of 2,-HCH in upland soil after multiple applications. *Soil Science and Plant Nutrition*. 35:71–77.

Wang YT. 2000. Microbial reduction of chromate. In: Lovley DR. (Ed.), *Environmental Microbe–Metal Interactions*. American Society for Microbiology Press Washington DC.

Wang, CL, Michels PC, Dawson SC, Kitisakkul S, Baross JA et Keasling JD 1997. Cadmium removal by a new strain of *Pseudomonas aeruginosa* in aerobic culture. *Applied and Environmental Microbiology*. 63(10):4075–4078.

Wasi S, Jeelani G et Ahmad M. 2008. Biochemical characterization of a multiple heavy metal, pesticides and phenol resistant *Pseudomonas fluorescens* strain. *Chemosphere*. 71:1348–1355.

Wasi S, Tabrez S et Ahmad M. 2011. Suitability of immobilized *Pseudomonas fluorescens* SM1 strain for remediation of phenols, heavy metals and pesticides from water. *Water, Air, and Soil Pollution*. 220:(1–4). 89–99.

Wasi S, Tabrez S et Ahmad M. 2013. Use of *Pseudomonas* spp. for the bioremediation of environmental pollutants. *Environmental Monitoring and Assessment*. 185:8147–8155.

Weaver RM et Hochella MF. 2003. The reactivity of seven Mn-oxides with Cr³⁺aq : A comparative analysis of a complex, environmentally important redox reaction. *American Mineralogist*. 88:2016–2027.

Wong PT et Trevors JT. 1988. Chromium toxicity to algae and bacteria. In: Nriagu JO., Nieboer E. (eds.), *Chromium in the Natural and Human Environments*. New York: Wiley; .p305–315

Woodford N, Morrison D , Cookson B. et George RC. 1993. Comparison of high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from different continents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 37:681–684

Wright DA et Welbourn P. 2002. *Environmental Toxicology*. Cambridge University Press. Pp:274-280.

Références bibliographique

Wuana RA et Okieimen FE. 2011. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRN Ecology*. 1– 20.

X

Xu XR, Li HB, Gu JD et Li XY. 2005. Kinetics of the reduction of chromium (VI) by vitamin C. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 24:1310–1314.

Y

Yadav SK. 2010. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany*. 76:167-179.

Yang S, Wu RS et Kong RY. 2002. Biodegradation and enzymatic responses in the marine diatom *Skeletonema costatum* upon exposure to 2,4-dichlorophenol. *Aquatic Toxicology*. 59:(3–4), 191–200.

Ye J, Yin H, Mai B, Peng H, Qin H, He B et Zhang N. 2010. Biosorption of chromium from aqueous solution and electroplating wastewater using mixture of *Candida lipolytica* and dewatered sewage sludge. *Bioresource Technology*. 101:3893–3902.

Z

Zahoor A et Rehman A. 2008. Isolation of Cr(VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of chromium containing wastewater. *Journal of Environmental Sciences* 21:814–820.

Zakhama S, Dhaouadi H et M'Henni F. 2011. Nonlinear modelisation of heavy metal removal from aqueous solution using *Ulva lactuca* algae. *Bioresource Technology*. 102: 786-796.

Zhitkovich Y, Song G, Quievryn V et Voitkun VX. 2001. Nonoxidative mechanisms are responsible for the induction of mutagenesis by reduction of Cr(VI) with cysteine: role of ternary DNA adducts in Cr(III)-dependent mutagenesis. *Biochemistry*. 16:549–560.

Zhou J, Xia B, Treves DS, Wu LY, Marsh TL, O'Neill RV, Palumbo AV et Tiedje JM. 2002. Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. *Applied and Environmental Microbiology*. 68:326–334.

Annexes

Annexes

Annexe 01 : les valeurs de la densité optique (DO) mesurée à 600nm pour les 10 cultures (test de screening).

	T0	T24	T48	T72
A1-1	0,177	0,295	0,543	0,829
A1-2	0,062	0,091	0,163	0,161
A1-3	0,11	0,141	0,193	0,164
A1-4	0,157	0,285	0,515	1,092
A2-1	0,075	0,14	0,149	0,192
A2-2	0,083	0,119	0,129	0,147
A3-1	0,228	0,337	0,481	0,768
A3-2	0,095	0,147	0,17	0,168
A3-3	0,058	0,13	0,168	0,209
A4-1	0,065	0,06	0,098	0,165

Annexe 02 : les valeurs de la densité optique (DO) mesurée à 600nm pour les 3 cultures (test effet du chrome sur la croissance).

	T0		T24		T48		T72	
	CR-	CR+	CR-	CR+	CR-	CR+	CR-	CR+
A1-1	0,038	0,032	0,254	0,194	0,36	0,208	1,12	0,281
A1-4	0,054	0,048	0,178	0,111	0,39	0,201	0,685	0,294
A3-1	0,051	0,048	0,131	0,126	0,169	0,121	0,38	0,198

Annexes

Annexe 03 : Quantification des cellules bactériennes (courbes étalon):

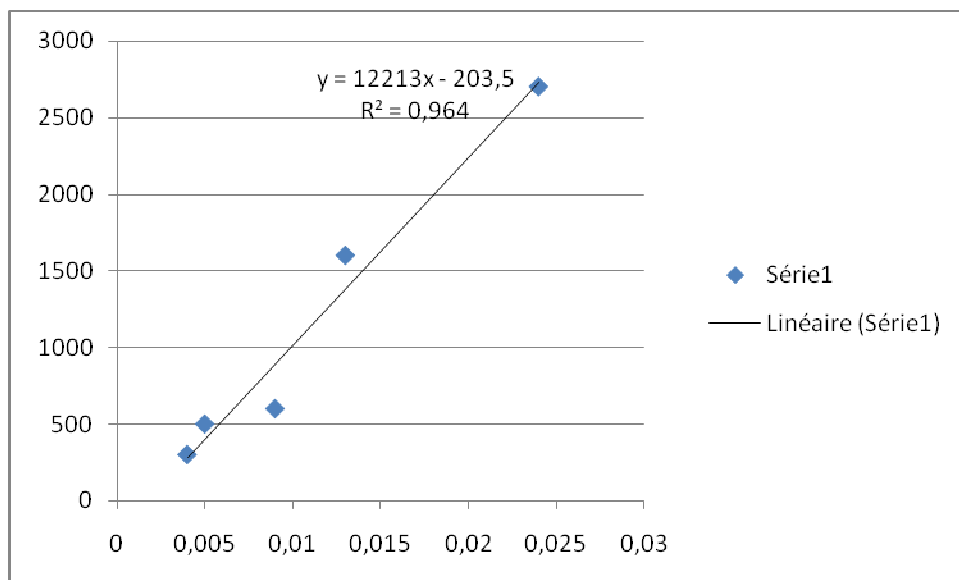
Volume de la suspension 3 ml		DO à 600 nm			Nombre d'UFC/ml		
		Souche: A1-1	Souche: A1-4	Souche: A3-1	Souche: A1-1	Souche: A1-4	Souche: A3-1
inoculum	Eau physiologique						
3ml	0 ml	0.024	0.019	0.018	2700	1800	1400
1.5 ml	1.5 ml	0.013	0.014	0.012	1600	1100	800
0.75 ml	2.25 ml	0.009	0.008	0.008	400	700	600
0.375 ml	2.625 ml	0.005	0.010	0.004	700	600	500
0.187 ml	2.81ml	0.004	0.007	0.006	300	500	500

Formule pour calculer le nombre d'UFC/ml :

$UFC/ml = n * (1/d)*(1/V)$, (Madigan M et Martinko J. 2007)

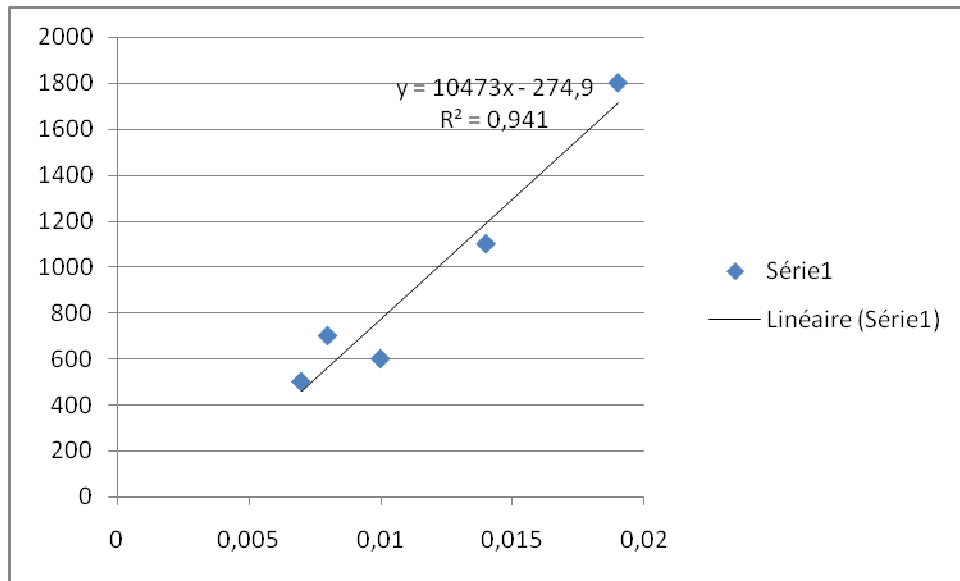
n : nombre de colonies, d : dilution, v : volume.

Annexe 04 : Courbe d'étalonnage de la souche A1-1, UFC/ml en fonction de la DO à 600 nm.

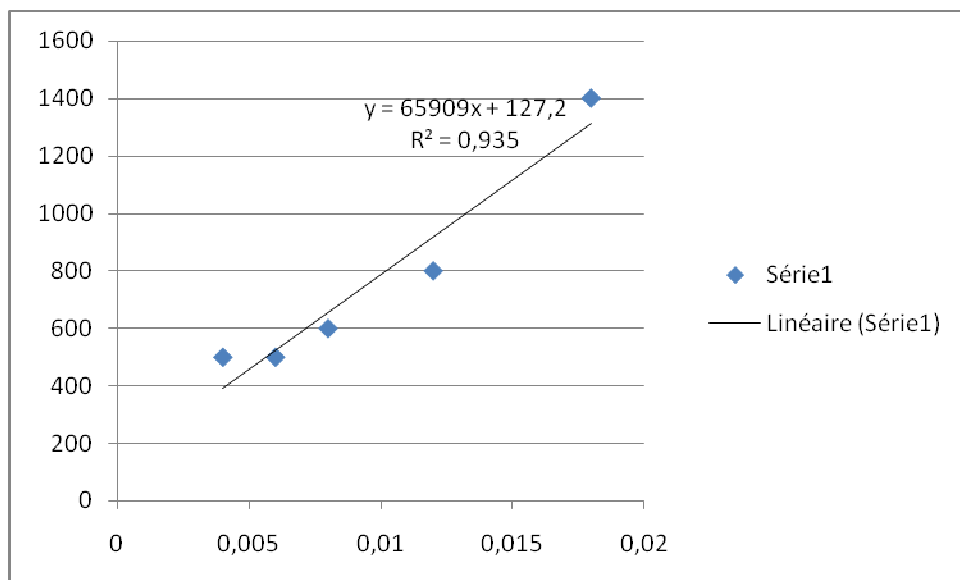


Annexes

Annexe 05 : Courbe d'étalonnage de la souche A1-4, UFC/ml en fonction de la DO à 600 nm



Annexe 06: Courbe d'étalonnage de la souche A3-1, UFC/ml en fonction de la DO à 600 nm.

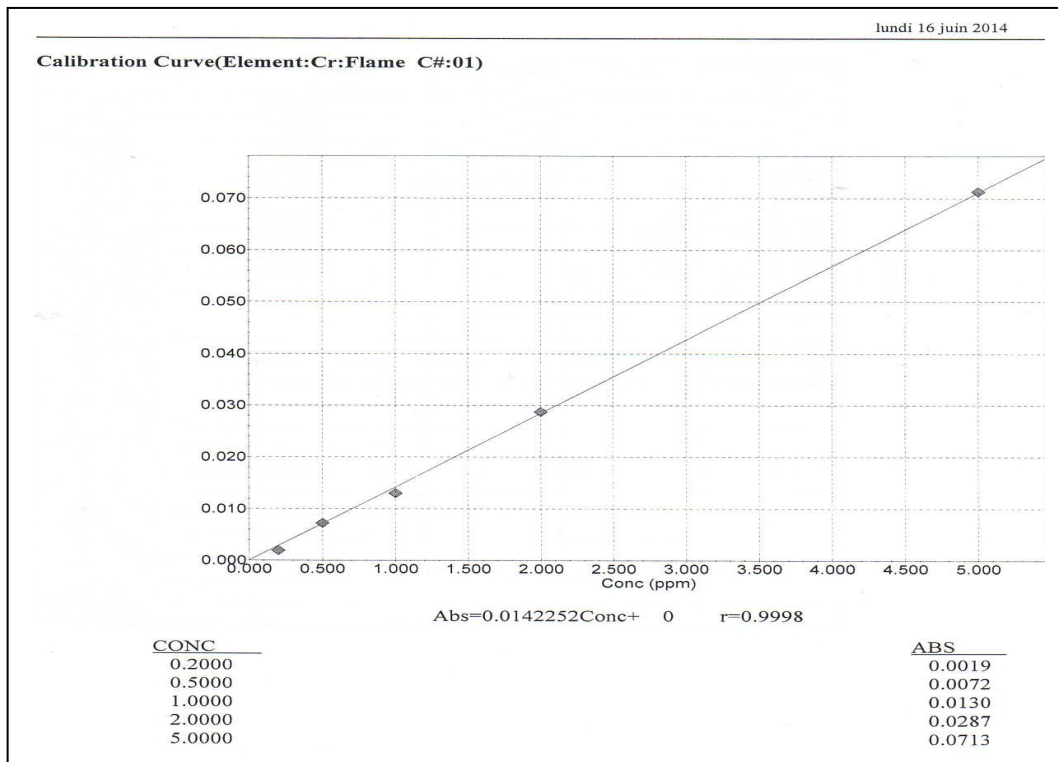


Annexes

Annexe 07 : composition du bouillon nutritif.

Composition du bouillon nutritif (BN/1L).	
constituants	Quantité
tryptone	10 g
Extrait de bœuf	5g
NaCl	10g
Eau deionisée	950 ml
NaOH pour ajuster le ph à 7	/

Annexe 08: courbe d'étalonnage pour le dosage du chrome (test d'élimination du chrome dans l'effluent).



Annexes

Annexe 09 : concentration du chrome (test d'élimination du chrome dans l'effluent).

Cr lundi 16 juin 2014

	Action	Sample ID	True Value (ppm)	Conc. (ppm)	Abs.
7	STD	STD 1	0.2000		0.0019
8	STD	STD 2	0.5000		0.0072
9	STD	STD 3	1.0000		0.0130
10	STD	STD 4	2.0000		0.0287
11	STD	STD 5	5.0000		0.0713
28	UNK10	001 D		0.2812	0.0040
30	UNK12	002 D		0.3093	0.0044
31	UNK13	003 D		0.4710	0.0067
32	UNK14				
33	UNK15				
34	UNK16				
35	UNK17				
36	UNK18				
37	UNK19				
38	UNK20				
39	UNK21				
40	UNK22				
41	UNK23				
42	UNK24				
43	UNK25				
44	UNK26				
45	UNK27				
46	UNK28				
47	UNK29				

Page 1 E:\SAA 2014\Cr\Moussaoui Med.aa

Annexes

Annexe 10 : concentration du chrome (test d'élimination du chrome dans le bouillon nutritif).

		Cr		dimanche 1 juin 2014	
	Action	Sample ID	True Value (ppm)	Conc. (ppm)	Abs.
7	STD	STD 1	0.2000		0.0019
8	STD	STD 2	0.5000		0.0072
9	STD	STD 3	1.0000		0.0130
10	STD	STD 4	2.0000		0.0287
11	STD	STD 5	5.0000		0.0713
156	UNK137	001 D1/10		0.9279	0.0132
158	UNK139	002 D1/10		0.9139	0.0130
159	UNK140	003 D1/10		0.9912	0.0141
160	UNK141	004 D1/10		1.3075	0.0186
161	UNK142	005 D1/10		1.0404	0.0148
162	UNK143	006 D1/10		1.1248	0.0160
163	UNK144	007 D1/10		0.9912	0.0141
164	UNK145	008 D1/10		0.9068	0.0129
165	UNK146	009 D1/10		0.8365	0.0119
166	UNK147	010 D1/10		0.9842	0.0140
167	UNK148	011 D1/10		1.2654	0.0180
168	UNK149	012 D1/10		1.0264	0.0146
169	UNK150	013 D1/10		1.0545	0.0150
170	UNK151	014 D1/10		1.0685	0.0152
171	UNK152	015 D1/10		0.8787	0.0125
172	UNK153	016 D1/10		0.9982	0.0142
173	UNK154	017 D1/10		1.0053	0.0143
174	UNK155	018 D1/10		1.2935	0.0184
175	UNK156	019 D1/10		1.0193	0.0145
176	UNK157	020 D1/10		1.0545	0.0150
177	UNK158	021 D1/10		1.1248	0.0160
178	UNK159	022 D1/10		0.8365	0.0119
179	UNK160	023 D1/10		0.8084	0.0115
180	UNK161	024 D1/10		0.8295	0.0118
181	UNK162	025 D1/10		1.1318	0.0161
182	UNK163	026 D1/10		0.8998	0.0128
183	UNK164	027 D1/10		0.9209	0.0131
184	UNK165	028 D1/10		1.2091	0.0172
185	UNK166				
186	UNK167				
187	UNK168				
188	UNK169				
189	UNK170				
190	UNK171				
191	UNK172				
192	UNK173				
193	UNK174				
194	UNK175				
195	UNK176				
196	UNK177				
197	UNK178				
198	UNK179				

Annexes

Annexe11 : numéro d'accension Genbank pour la souche A3-1

Bacillus megaterium strain A3-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: KP163918.1

[FASTA](#) [Graphics](#) [PopSet](#)

Go to:

LOCUS KP163918 817 bp DNA linear BCT 05-APR-2015
DEFINITION Bacillus megaterium strain A3-1 16S ribosomal RNA gene, partial
sequence.
ACCESSION KP163918
VERSION KP163918.1 GI:796406680
KEYWORDS .
SOURCE Bacillus megaterium
ORGANISM [Bacillus megaterium](#)
Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 817)
AUTHORS Moussaoui,M., Ouled-Haddar,H. and Aissaoui,S.
TITLE Elimination of heavy metals in industrial effluent by locally
isolated bacteria
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 817)
AUTHORS Moussaoui,M., Ouled-Haddar,H. and Aissaoui,S.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (17-NOV-2014) Department of Applied Microbiology and Food
Sciences, University of Jijel, Ouled Aissa, Jijel 18000, Algeria
COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..817
/organism="Bacillus megaterium"
/mol_type="genomic DNA"
/strain="A3-1"
/isolation_source="tannery activated sludge"
/db_xref="taxon:1404"
/country="Algeria"
rRNA
.....<1..>817
/product="16S ribosomal RNA"

ORIGIN

```
1 caaacgccgg gattgctcct ggctcagcgt atgagtaggc ctagattctg tgacgttcgc
61 ggccggacggg tgagtaacac gtgggcaacc tgcctgtaag actgggataa cttcgggaaa
121 ccgaagctaa taccggatag gatcttctcc ttcattgggag atgattgaaa gatggtttctg
181 gctatcactt acagatgggc ccgcggtgca ttagctagtt ggtgaggtaa cggctcacca
241 aggcaacgat gcatagccga cctgagaggg tgatcggcca cactgggact gagacacggc
301 ccagactcct acgggaggca gcagtaggga atcttccgca atggacgaaa gtctgacgga
361 gcaacgccgc gtgagtgatg aaggctttcg ggctcgtaaaa ctctgttgtt aggggaagaac
421 aagtacaaga gtaactgctt gtaccttgac ggtacctaac cagaaagcca cggctaacta
481 cgtgccagca gccgcggtaa tacgtaggtg gcaagcgtta tccggaatta ttgggcgtaa
541 agcgcgcgca ggccggtttct taagtctgat gtgaaagccc acggctcaac cgtggagggt
601 cattggaaac tggggaactt gagtgacgaa gagaaaagcg gaatttcac gtgtagcgtg
661 aaatgcgtag agatgtggag gaacaccagt ggcgaaagcg ggcttttttg ggtctgtaac
721 tgacgctgag gcgcgaaagc ggtggggagc aaacaggaat tagatactcc tggtagtcca
781 cccccgtaaa ccaataagtt gctaaattgt tagaagg
```

//

Annexe 12 : numéro d'accession Genbank pour la souche A1-1

Bacillus sp. A1-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: KP163917.1

[FASTA](#) [Graphics](#) [PopSet](#)[Go to:](#)

LOCUS	KP163917	824 bp	DNA	linear	BCT 05-APR-2015		
DEFINITION	Bacillus sp. A1-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.						
ACCESSION	KP163917						
VERSION	KP163917.1 GI:796406679						
KEYWORDS	.						
SOURCE	Bacillus sp. A1-1						
ORGANISM	Bacillus sp. A1-1						
	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus.						
REFERENCE	1 (bases 1 to 824)						
AUTHORS	Moussaoui,M., Ouled-Haddar,H. and Aissaoui,S.						
TITLE	Elimination of heavy metals in industrial effluent by locally isolated bacteria						
JOURNAL	Unpublished						
REFERENCE	2 (bases 1 to 824)						
AUTHORS	Moussaoui,M., Ouled-Haddar,H. and Aissaoui,S.						
TITLE	Direct Submission						
JOURNAL	Submitted (17-NOV-2014) Department of Applied Microbiology and Food Sciences, University of Jijel, Ouled Aissa, Jijel 18000, Algeria						
COMMENT	##Assembly-Data-START##						
	Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing						
	##Assembly-Data-END##						
FEATURES	Location/Qualifiers						
source	1..824						
	/organism="Bacillus sp. A1-1"						
	/mol_type="genomic DNA"						
	/strain="A1-1"						
	/isolation_source="tannery activated sludge"						
	/db_xref="taxon:1630715"						
	/country="Algeria"						
rRNA	<1..>824						
	/product="16S ribosomal RNA"						
ORIGIN							
	1	caaacggccc	gggggttgac	ctggctcaat	cgtaccgagg	aggggctaga	ttctatgacg
	61	gtcgcggcgg	acgggcgagt	aacacgtggg	caacctgcct	gtaagactgg	gataacttcg
	121	ggaaaccgaa	gctaataccg	gataggatct	tctccttcat	gggagatgat	tgaaagatgg
	181	tttcggctat	cacttacaga	tgggcccgcg	gtgcattagc	tagttggatg	ggtaacggct
	241	caccaaggca	acgatgcata	gccgacctga	gagggtgata	ggccacactg	ggactgagac
	301	acggcccaga	ctcctacggg	aggcagcagt	agggaatctt	cgcgaatgga	cgaaagtctg
	361	acggagcaac	gccgcgtgag	tgatgaaggc	tttcgggtcg	taaaactctg	ttgttaggga
	421	agaacaagta	caagagtaac	tgcttgtacc	ttgacggtac	ctaaccagaa	agccacggct
	481	aactacgtgc	cagcagccgc	ggtaatacgt	aggtggcaag	cgttatccgg	aattattggg
	541	cgtaaagcgc	gcgcaggcgg	tttcttaagt	ctgatgtgaa	agcccacggc	tcaaccgtgg
	601	aggttcattg	gaaactgggg	aacttgagtg	cagaagagaa	aagcgggaat	ccacgtgtag
	661	cggtgaaatg	cggtagagat	gtgggagggg	acaccagtgg	cgaaaggcgg	gctttttggg
	721	tctgtaactg	acgctcaggc	gcgaaagcgt	gggggagcaa	caggagttag	atacgctggg
	781	tgggtccaag	cccgtaaacg	atgaattgct	agagtgggta	ggag	

//

Annexes

Annexe 13: valeurs des taux de réduction du chrome, par chaque souche dans le temps.

Taux souches	réduction du chrome en %		
	t24	t48	t72
A01-01	4,623	-2,68	10,6906
A01-04	2,13	-0,0043	14,67
A03-01	3,893	4,221	15,9107

Annexe 14 : Séquences partielles de l'ADNr 16S des souches A1-1 et A3-1.

A1-1 (824)

CAAACGGCCCCGGGGTTGACCTGGCTCAATCGTACCGAGGAGGGGCTAGATTCTATGACGGTCGCGGCGGACGGGC
GAGTAACACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGAAGCTAATACCGGATAGGATCTTCT
CCTTCATGGGAGATGATTGAAAGATGGTTTCGGCTATCACTTACAGATGGGCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG
GTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCC
AGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACAAGAGTAACTGCTTGACCTTGACGGTACC
TAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTG
GGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAAC
TGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGCGGTAGAGATGTGGGAGGGA
ACACCAGTGGCGAAAGGCGGGCTTTTTGGGTCTGTAAGTACGCTCAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCAACAGGAG
TTAGATACGCTGGGTGGGTCCACGCCCGTAAACGATGAATTGCTAGAGTGGTTAGGAG

A3-1 (817)

CAAACGCCGGGATTGCTCCTGGCTCAGCGTATGAGTAGGCCTAGATTCTGTGACGTTTCGCGGCGGACGGGTGAGTAA
CACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGAAGCTAATACCGGATAGGATCTTCTCCTTCAT
GGGAGATGATTGAAAGATGGTTTCGGCTATCACTTACAGATGGGCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACG
GCTCACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCC
TACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGC
TTTCGGGTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACAAGAGTAACTGCTTGACCTTGACGGTACCTAACCAAG
AAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAA
AGCGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGA
ACTTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTTCCACGTGTAGCGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGG
CGAAAGGCGGCTTTTTGGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGGTGGGGGAGCAACAGGAATTAGATACT
CCTGGTAGTCCACCCCGTAAACCAATAAGTTGCTAAATTGTTAGAAGG

Contribution à l'étude de l'élimination du chrome par des bactéries isolées des effluents de la tannerie de Jijel

President : -LEHOUAL Mesbah
Rapporteur: -Houria Ouled Haddar
Examineur : -LEGHOUCHI Essaid
-IDOUI Tayeb

Présenté Par :
Mr :Moussaoui Mohamed

ملخص

تعتبر المعادن الثقيلة من اهم المكونات السامة الرئيسية لمياه الصرف الصحي الناتجة من مختلف القطاعات الصناعية، بما في ذلك مياه المدابغ الملوثة بشكل كبير بالكروم (VI). تشكل مياه الصرف الصحي خطرا كبيرا على البيئة إذا لم يتم تصفيتها بشكل صحيح قبل أن يتم طرحها في البيئة. المعالجة البيولوجية عبارة عن معالجة باستخدام الكائنات الحية الدقيقة المقاومة للكروم. في دراستنا قمنا بعزل عشرة سلالات بكتيرية من الحمأة المنشطة لمحطة التصفية التابعة لمديعة جيجل، تم اختيار ثلاثة منها لمقاومتها للكروم و هي *Bacillus sp* A1-1 و *Bacillus megaterium* A3-1 و *Bacillus sp* A1-4. أظهرت دراسة التركيز الأدنى المثبط أن السلالات قادرة على تحمل 140 ملغم / لتر، و 180 ملغم / لتر، و 120 ملغم / لتر ونسبة إزالة الكروم (VI) 10.69٪، 14.67٪ و 15.91٪ على التوالي.

كلمات مفتاحية: الكروم (VI)، المقاومة، البكتيريا، المعالجة البيولوجية، مياه الصرف الصحي للمدابع.

Résumé

Les métaux lourds sont les principaux constituants toxiques des eaux usées de divers secteurs d'activité industrielle, notamment celles des tanneries, fortement contaminées par le chrome. Ces eaux usées représentent un risque important pour l'environnement si elles ne sont pas traitées correctement avant leur rejet dans la nature. La bioremediation est un procédé de traitement biologique utilisant des micro-organismes résistants au chrome. Dans notre étude dix souches bactériennes ont été isolées à partir des boues d'épuration de la tannerie de Jijel, trois d'entre elles, ont été sélectionnées pour leur tolérance au chrome, *Bacillus sp* A1-1, *Bacillus megaterium* A3-1 et la souche *Bacillus sp*. A1-4. L'étude de la CMI a démontré que les souches toléraient 140 mg/l, 180 mg/l et 120 mg/l et présentaient un pourcentage d'élimination du chrome (VI) de 10.69%, 14.67% et 15.91%, respectivement.

Mots clés : chrome (VI), tolérance, bactéries, bioremediation, effluents de tannerie.

Abstract

Heavy metals are the main toxic constituents of wastewaters from various industrial sectors, including those of Tanneries, seriously contaminated with chromium. These wastewaters are a major risk to the environment if they are not properly treated before being released into the environment. Bioremediation is a biological treatment process using chromium-resistant micro-organisms. In our study ten bacterial strains were isolated from sewage sludge of Jijel's tannery; three of them were selected for their tolerance to chrome *Bacillus sp* A1-1, *Bacillus megaterium* A3-1 and *Bacillus sp*. A1-4 strain. The MIC study has demonstrated that the strains tolerated up to 140 mg / l, 180 mg / l and 120 mg / l and the removal rate of chromium (VI) were 10.69%, 14.67% and 15.91%, respectively.

Key words: Chromium (VI), tolerance, bacteria, bioremediation, tannery effluents.

