

DIVERSITÉ BACTÉRIENNE AU COURS D'UNE ATTÉNUATION NATURELLE: DÉVERSEMENT PÉTROLIER DANS LES CÔTES TUNISIENNES

Ines Zrafi ¹, AbdelGhani Sghir ², Ahmed Ghrabi ¹ and Dalila Saidane-Mosbahi ^{3*}

¹ Centre de Recherches et des Technologies des Eaux (CERTe), Technopôle Borj Cédria, BP 273, 8020 Soliman, Tunis, Tunisie

² Institut de Génomique, CEA-Genoscope, Laboratoire de Métagénomique des Procaryotes, UMR-CNRS-8030 Génomique Métabolique, 2, Rue Gaston Crémieux, 91000 Evry, France

³ Laboratory of Analysis Treatment and Valorization of Environmental Pollutants and Products, Faculty of Pharmacy, University of Monastir, Tunisia - Dalila.Saidane@fphm.rnu.tn

Abstract

Notre objectif était d'étudier la diversité et d'élucider les éventuels changements dans la composition des populations bactériennes au cours d'un processus d'atténuation naturelle. Nous avons suivi la dynamique bactérienne *in situ* suite à un accident pétrolier qui a eu lieu sur les côtes Nord-Est tunisiennes. Pour ce faire deux banques de gène ont été construites durant les années 2005 et 2006 (K1-5 et K1-6). Cette étude a montré l'effet d'un déversement pétrolier dans la sélection de phylotypes adaptés aux degrés et à la nature des hydrocarbures présents appartenant essentiellement aux *Gammaproteobacteria* et aux *Actinobacteria*.

Keywords: Biomass, Biodiversity, Petroleum, Pollution, Tunisian Plateau

Introduction La bioremédiation repose sur l'utilisation des capacités naturelles de certains organismes à métaboliser les polluants [1]. La connaissance des microflores locales des sites contaminés et de leurs capacités intrinsèques de biodégradation est essentielle pour pronostiquer les chances d'atténuation naturelle du site pollué. Plusieurs études concernant la biodégradation de produits pétroliers, sur site ou au laboratoire, ont été effectuées [3]. En effet un des derniers défis que se sont lancés les recherches actuelles consiste à établir un lien entre diversité et fonction afin d'accéder à l'écophysio-logie des microorganismes pour améliorer encore les rendements de décontamination par compréhension de leurs principaux acteurs. Ce travail est la première étude menée, suite au déversement pétrolier dans les côtes de Kourbous, Tunisie, pour suivre la dynamique des populations bactérienne.

Méthodologie L'échantillonnage d'eau de mer a été réalisé pendant les années 2005 et 2006. Suite à une extraction de l'ADN génomique total, deux banques ADN r16S ont été construites et notées K1-5 et K1-6. Les séquences obtenues ont été soumises à une analyse de type BLAST contre la base de données GenBank. L'analyse fine de la diversité et la construction d'arbres phylogénétiques se fait ensuite grâce à la base de données ARB.

Résultats et discussion Un total de 156 et de 172 clones est obtenu respectivement pour K1-5 et K1-6 (Tab.1). Ces séquences ont montré un pourcentage de similarité variant de 89 à 100 % avec les plus proches parents. Cette étude a montré l'effet de la pollution par les hydrocarbures dans la sélection de phylotypes adaptés aux degrés et à la nature des polluants présents appartenant essentiellement aux *Gammaproteobacteria* et aux *Actinobacteria*.

Tab. 1. Caractéristiques des banques K1-5 et K1-6.

Banque	Nbre de clone	Nbre d'OTUs	Indice de diversité		
			Simpson	Chao	Shannon
K1-5	156	63	71,2	2,1	0,06
K1-6	172	84	67,1	2,83	0,1

La comparaison des deux banques (Fig. 1) montre que les changements au sein du domaine Bacteria se manifeste tant par des disparitions et des apparitions de phylum, d'une sous-division ou une division bactérienne. Ainsi nous avons enregistré comme changement majeure au sein des groupes bactériens, l'apparition de la sous-division des *Actinobacteria* dans K1-6, non détectée au sein de la microflore K1-5 et qui devient majoritaire. A côté des *Actinobacteria* on note l'apparition dans K1-6 de groupes bactériens minoritaires comme : *Betaproteobacteria*, *Bacilli*, *Clostridia*, *Unclassified_Bacteria* et *Genera_incertae_sedis_TM7*. Par ailleurs la sous-classe des *unclassified_Bacteroidetes* qui est bien représentée dans la microflore K1-5 (26 clones) est non détectée dans K1-6. D'autres groupes bactériens minoritaires ont aussi disparu dans K1-6 à savoir : les *Bacteroidetes* et les *Verrucomicrobiae*.

D'autres sous-divisions ont été détectées dans les deux microflores mais avec des proportions différentes dans le sens d'une diminution c'est le cas des *Gammaproteobacteria* et des *Flavobacteria*. Aussi d'autres sous-divisions ont été détectées dans les deux banques en gardant une même ampleur d'abondance comme les *Alphaproteobacteria*, les *Deltaproteobacteria* et les *Sphingobacteria*. Ainsi on peut dire que suite à un déversement pétrolier la diversité bactérienne tend vers la sélection des taxons impliqués dans la dégradation des hydrocarbures correspondant. Mais un retour à l'équilibre du départ tend à s'établir vers la fin de l'atténuation naturelle. L'identification de ces phylotypes présentant un intérêt en bioremédiation permet d'établir un lien entre la diversité microbienne et le fonctionnement en relation avec la nature du milieu et les conditions naturelles des écosystèmes. Cette étude réalisée *in situ* exprimera l'effet des paramètres physico-chimiques et biotiques affectant la dynamique des populations microbiennes en milieu marin, durant le processus de bioremédiation. Cette application de l'écologie moléculaire pourrait ainsi clarifier notre compréhension de la réponse des microflores natives suite à leur exposition au stress polluant.

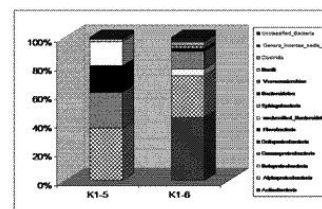


Fig. 1. Dynamique des populations bactériennes au cours de l'atténuation naturelle *in situ* de l'eau de mer de Kourbous.

Conclusion Cette étude pourra permettre à terme de caractériser plus facilement la dynamique et les interactions des consortia avec leur environnement et de déterminer les différents groupes bactériens impliqués dans la dégradation des hydrocarbures. Un tel suivi de la dynamique bactérienne serait l'étape primordiale dans la compréhension des procédés de bioremédiation *in situ* pour une meilleure application et une meilleure efficacité.

References

- 1 - Harayama S., Kishira H., Kasai Y. & Shutsubo K. 1999. Petroleum biodegradation in marine environments. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 1(1): 63-70.
- 2 - Hamamura N., Olson S.H., Ward D.M. & Inskeep W.P. 2006. Microbial population dynamics associated with crude-oil biodegradation in diverse soils. *Appl Environ Microbiol.* 72: 6316-6324.
- 3 - Salanitro J.P. 2001. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in soil. *Adv in Agron.* 72: 53-105.