# 13

# Distribution spatiale des populations de *Vibrionaceae* thermotolérants dans une lagune côtière (lagune de Bizerte : Nord-Tunisie)

Spatial distribution of thermotolerant *Vibrionaceae* populations in a coastal lagoon (Bizerta lagoon: Northern Tunisia)

# Imen Boukef<sup>\*1</sup>, Selma Mejri<sup>1</sup>, Radhia Mraouna<sup>1</sup>, Béchir Bejaoui<sup>2</sup>, Melika Belhassan<sup>2</sup>, Ali Harzallah<sup>2</sup>, Abdellatif Boudabous<sup>3</sup>, Monia Elbour<sup>1</sup>

Laboratoire de Microbiologie, Institut National des Sciences et Technologie de la Mer, 2025 Salammbô, Tunisie.
Laboratoire du Milieu Marin, Institut National des Sciences et Technologie de la Mer, 2025 Salammbô, Tunisie.
Laboratoire des Microorganismes et biomolécules actives, Faculté des Sciences de Tunis, El Manar II, Tunisie.
\* Corresponding author: Imen Boukef: imen.boukef@yahoo.fr

# Abstract

Boukef I., S. Mejri, R. Mraouna, B. Bejaoui, M. Belhassan, A. Harzallah, A. Boudabous, M. Elbour – Spatial distribution of thermotolerant *Vibrionaceae* populations in a coastal lagoon (Bizerta lagoon: Northern Tunisia). *Mar. Life*, 17 (1-2) : 13-23.

The spatial distribution of Vibrionaceae thermotolerant (VB) and cultivable heterotrophic bacteria (CHB) in the water and the sediments was studied in a coastal ecosystem (Bizerta lagoon: northern Tunisia). A seasonal survey for the periods of November 2004, April 2005, May 2005 and August 2005 was carried out at 41 stations, covering the entire lagoon. In parallel, a full bacteriological survey in water, sediments, mussels and clams was carried out in a shellfish area situated in the northeast of the lagoon. The results revealed high loads of VB and CHB (> 104 et 10<sup>6</sup> cfu/100 mL for VB and CHB respectively) observed in the coastal sectors mainly in front of urban zones and close to shellfish farming areas, rich in organic matter. A comparable spatial distribution of CHB and VB loads was observed indicating that the VB represent the main part of bacterial populations which showed significant seasonal variations (CV > 40%) in comparison with the CHB which were constantly maintained. Furthermore, we observed a considerable summer proliferation for the VB (in water, sediments and clams), which raises once again the question of the potential health risk of these bacteria in littoral zones, notably with regard to shellfish farming.

#### **KEY-WORDS**:

Vibrionaceae thermotolerant, cultivable heterotrophic bacteria, coastal ecosystem, spatial distribution, Bizerta lagoon.

# Résumé

Boukef I., S. Mejri, R. Mraouna, B. Bejaoui, M. Belhassan, A. Harzallah, A. Boudabous, M. Elbour – Distribution spatiale des populations de *Vibrionaceae* thermotolérants dans une lagune côtière (lagune de Bizerte : Nord-Tunisie). *Mar. Life*, 17 (1-2) : 13-23.

La variation spatiale de l'abondance des Vibrionaceae thermotolérants (VB) ainsi que des bactéries hétérotrophes cultivables (BHC) dans l'eau et les sédiments, a été étudiée dans un écosystème côtier (la lagune de Bizerte). Ainsi, un échantillonnage couvrant 41 stations sur toute la lagune a été réalisé pendant 4 saisons successives, (novembre 2004, février 2005, mai 2005 et août 2005). En parallèle, un suivi bactériologique plus large de l'eau, des bivalves (moules et palourdes) et des sédiments a été effectué dans un site mytilicole (situé au nord-est de la lagune) en vue de déterminer les interférences éventuelles des populations bactériennes extrinsègues sur l'état sanitaire du site conchylicole. Les résultats ont révélé que les charges en VB et BHC dans l'eau et les sédiments (>  $10^4$  et  $10^6$  cfu/100 mL respectivement pour les VB et les BHC) sont essentiellement concentrées en face des zones urbaines et conchylicoles, riches en matière organique. Les répartitions spatiales des deux populations bactériennes sont comparables révélant que les Vibrionaceae représentent la majorité des populations bactériennes hétérotrophes. Toutefois, les charges des VB présentent une variation saisonnière plus importante (coefficient de variation > 40 %) que celles des BHC relativement plus stables. Pour ces VB, une prolifération estivale notable dans l'eau, les sédiments et les palourdes, a été observée, ce qui soulève encore une fois le risque sanitaire potentiel de ces bactéries en zones littorales notamment pour la conchyliculture.

### MOTS CLÉS :

Vibrionaceae thermotolérants, bactéries hétérotrophes cultivables, écosystème lagunaire, distribution spatiale, la lagune de Bizerte.

# Introduction

Les *Vibrionaceae* constituent une famille de gamma protéo-bactéries à Gram négatif à très large distribution au sein des milieux aquatiques notamment dans les estuaires et les écosystèmes marins où elles constituent une grande part de la microflore autochtone (Dellali *et al.*, 2001 ; Thompson *et al.*, 2004 ; Castaneda Chavez *et al.*, 2005 ; Boukef *et al.*, 2008). La richesse en matière organique des lieux ainsi qu'un attachement aux surfaces planctoniques contenant de la chitine favorisent la survie et la multiplication des espèces de vibrios (Dumontet *et al.*, 1996 ; Canesi *et al.*, 2006 ; Vezzulli *et al.*, 2008).

De plus, leur présence commensale a été reportée dans plusieurs études aussi bien chez les invertébrés, notamment crustacés et bivalves, que pour plusieurs espèces de poissons (Cavallo, Stabili, 2002 ; Maugeri *et al.*, 2006 ; Dryselius *et al.*, 2007 ; Licciano *et al.*, 2007 ; Mahmud *et al.*, 2007). La transmission de leurs formes virulentes à l'homme a été souvent reliée à la consommation des mollusques bivalves notamment en zones côtières (Janda, Bryant, 1987; Liew *et al.*, 1998 ; Maugeri *et al.*, 2000 ; China *et al.*, 2003).

En Tunisie, la lagune de Bizerte constitue un des sites conchylicoles les plus importants avec une richesse halieutique prépondérante. Cependant, en dépit d'une forte anthropisation urbaine et industrielle sur ces berges, peu d'études ont concerné la distribution bactérienne notamment les *Vibrionaceae* dans la lagune de Bizerte (Dellali *et al.*, 2001 ; Hassen *et al.*, 2004 ; Essid *et al.*, 2007). Pour ces études, l'analyse de la variation spatiale de ces bactéries a été très limitée (couvrant un secteur réduit de l'écosystème lagunaire).

L'objectif de la présente étude est d'évaluer la distribution spatiale des *Vibrionaceae* thermotolérants et les bactéries hétérotrophes cultivables dans la lagune de Bizerte (eau, sédiments et bivalves) en corrélation avec les différents paramètres hydrobiologiques du milieu pendant un cycle saisonnier (novembre 2004 - août 2005), en vue de tracer les interférences de ces formes de bactéries sur la qualité sanitaire des élevages conchylicoles dans la lagune.

# Matériel et méthodes

# Site d'étude et échantillonnage

La lagune de Bizerte est située au nord de la Tunisie, sur la côte sud de la mer Méditerranée (entre les latitudes 37°8' et 37°14' et entre les longitudes 9°46' et 9°56') (**Figure 1**). Une grille d'échantillonnage systématique dont les nœuds sont distants de 1 km a été utilisée, définissant 41 stations de prélèvement **(Figure 2)**. Pour chaque station, les prélèvements ont été effectués au niveau de l'eau de surface et des sédiments. En parallèle, des échantillons d'eau, de moules et de sédiment ont été prélevés au niveau d'un site mytilicole, situé au nord-est de la lagune.

L'échantillonnage a été effectué périodiquement pendant les quatre saisons : novembre 2004, février 2005, mai 2005 et août 2005.

Les prélèvements d'eau ont été effectués dans des flacons en verre (Pyrex) stériles de 500 mL (à 50 cm sous la surface d'eau). Les prélèvements de sédiment ont été effectués à l'aide d'une benne manuelle puis conservés dans des sacs en plastiques stériles. Chaque prélèvement de moules consiste en un lot de 10 individus vivants. Tous les échantillons effectués ont été maintenus à 4°C et analysés au plus tard dans les 24 heures qui suivent les prélèvements.

## Paramètres abiotiques

Les relevés des moyennes mensuelles de pluviométrie (mm) et les durées d'ensoleillement (h), ainsi que la vitesse du vent (m/s) ont été enregistrés par une station météorologique située à proximité de la lagune. En ce qui concerne les paramètres physico-chimiques, la température (°C), la salinité (psu), l'oxygène dissous (mg/L) ont été mesurés *in situ*, à l'aide d'une sonde multiparamétrique (WTW 350I, M226514) au niveau des 41 points de prélèvements à chaque prise d'échantillons.

## Analyses bactériologiques

Les prélèvements d'eau ont été analysés à l'état brut ou dilués dans de l'eau physiologique à 3 % de NaCl. Pour le sédiment, 10 g de prise d'essai sont mis en agitation dans un flacon stérile contenant de l'eau physiologique à 3 % de NaCl (w/v). Pour les moules, au préalable de l'analyse les individus (un lot de 10 moules) sont brossés puis écaillés aseptiquement, leurs contenus (chair et liquide intravalvaire) sont vidés dans un sac stérile et homogénéisés dans l'eau physiologique à 3 % de NaCl (w/v) à l'aide d'un Stomacher (STOMACHER 400, Seward). L'homogénat est analysé à l'état brut ou dilué.

Les différents types de dénombrements ont été effectués par prise de 100  $\mu$ L d'échantillon d'eau ou d'homogénat, brut ou dilué (série de dilution 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>), selon la technique de comptage en boites gélosées ou « Plate Counting Agar » (ISO 15214, 1998), se basant sur l'utilisation du milieu sélectif : Thiosulfate-Citrate-Bile-Sodium (TCBS- BioRad) pour les dénombrements des *Vibrionaceae* (VB) (Maugeri *et al.*, 2004) et le milieu

La lagune de Bizerte. Localisation des principales agglomérations (●), des zones conchylicoles (rectangle gris) et des stations d'épuration (STEP) (★). Les cercles discontinus sont les secteurs des zones urbaines et les cercles continus sont des zones industrielles.

The lagoon of Bizerta. Localization of the principal city (●), the shellfish farming areas (grey rectangle) and the sewage treatment plants (★). Dashed circles are the areas of urban zones and solid circles are of industrial zones.



#### Figure 2

Bathymétrie de la lagune de Bizerte et les stations d'échantillonnage spatial. *Bathymetry of the Bizerta* 

lagoon and spatial sampling stations.



Zobell (Peptone 4 g/L, Extrait de levure 1 g/L, Phosphate ferrique 0,1g/L, NaCl 30g/L, Gelose Agar 15 g/L) (Oppenheimer, Zobell, 1952) pour les bactéries hétérotrophes cultivables (BHC).

Toutes les boites ensemencées ont été incubées pendant 24 heures à 37°C avant leur lecture. À chaque dénombrement, la concentration en bactéries a été estimée en nombre d'unité formant colonies (ufc) par 100 mL d'eau ou d'homogénat de moules ou de sédiment.

# Méthodes de traitement des données

La distribution spatiale des charges bactériennes analysées sur toute la lagune a été réalisée à l'aide du logiciel Surfer 7.0. Les valeurs brutes obtenues par dénombrement des concentrations bactériennes (*x*) sont transformées au moyen de l'équation :  $y = \log_{10}(x+1)$ .

Les valeurs moyennes ainsi que les valeurs des coefficients de variations, pour chaque type de bactéries, obtenues à chaque station (sur la base des quatre valeurs mesurées à chaque saison) ont été cartographiées pour l'eau et les sédiments. [Coefficient de variation = (Ecart type/Moyenne)\* 100].

Les différents types de corrélations entre les charges bactériennes moyennes, dans toute la lagune pour chaque saison et les différents paramètres du milieu ont été déterminés à l'aide du logiciel STATISTICA 6.0.



Taux mensuels de pluviométrie (mm) (**a**), durée d'ensoleillement (h) (**b**) et valeurs journalières de la vitesse du vent (m/s) (**c**) enregistrés sur le site durant la période d'étude.

The rain monthly level (mm) (**a**), the radiation time (h) (**b**) and the wind velocity (m/s) (**c**) during the study period.

# Résultats

16

## Paramètres abiotiques

## 1. Facteurs météorologiques

Les relevés des moyennes mensuelles de la pluviométrie (mm) et de l'ensoleillement (h), ainsi que les valeurs journalières de la vitesse du vent durant la période d'étude (septembre 2004 - août 2005) sont illustrés sur la **figure 3**. Les campagnes réalisées sont indiquées par des flèches.

Les campagnes de novembre 2004 et février 2005 correspondent à une période pluvieuse avec des valeurs très importantes en pluviométrie (210 mm) et en vitesse du vent (> 20 m/s) enregistrées en février 2005. La durée d'ensoleillement mensuelle moyenne est de 155 heures. Les campagnes de mai et août 2005 ont été marquées par l'absence de pluie, avec des durées moyennes d'ensoleillement deux fois plus importantes (> 300 h) et une vitesse du vent relativement stable.

#### 2. Salinité

Un minimum de salinité (29 psu) a été observé pendant la campagne de novembre dans la zone ouest de la lagune de Bizerte. Ce minimum qui s'étend vers l'est reflète les eaux de faible salinité en provenance du lac Ichkeul qui se rejettent dans la lagune par l'oued Tinja au début de la période pluvieuse. Lors de la campane de février 2005 (fin de la période pluvieuse), les taux de salinité étaient les plus faibles (< 20 psu) notamment dans la partie nord de la lagune. Les eaux de pluie du lac Ichkeul partiellement diluées dans les eaux de la lagune se sont principalement orientées vers le nord de la lagune dans la direction du chenal amenant à la mer ouverte. Ceci reflète l'important surplus d'eau de l'épisode pluvieux en provenance des différentes rivières et du lac Ichkeul qui s'achemine progressivement vers la mer. En février, la plus grande partie de l'eau douce a atteint la moitié nord de la lagune. En mai 2005, les eaux sont plus salées (> 32 psu) notamment au niveau de la partie nord de la lagune. Cette situation reflète l'état typique de la lagune où les zones nord,

Cartes de la distribution spatiale de la salinité (A), température (B), oxygène dissous (C) et pH (D) pour chacune des campagnes d'échantillonnage : novembre 2004 (a), février (b), mai (c) et août (d) 2005.

The spatial distribution of salinity (**A**), temperature (**B**), dissolved oxygen (**C**) and pH (**D**) in November 2004 (**a**), February (**b**), May (**c**) and August 2005 (**d**) campaigns.



plus proches de la mer ont des salinités plus élevées. La salinité moyenne de la lagune a encore augmenté en août pour dépasser la valeur de 36 psu. Les plus fortes valeurs se trouvent près du chenal de navigation **(Figure 4A)**.

## 3. Température

En novembre 2004 la température des eaux de la lagune a varié entre 15 et 18°C. Elle a baissée considérablement (< 12°C) lors de la campagne de février 2005. En mai et août, on retrouve une situation plus typique avec des valeurs de température plus élevées dans la partie continentale au sud de la lagune par rapport à la partie marinisée au nord. En août la température atteint 25-29°C et augmente du nord au sud de la lagune. La température est plus homogène en août suite au mélange des eaux lagunaires et des eaux marines **(Figure 4B)**. Notons que seules les grandes tendances de température (variation saisonnière) sont significatives puisque les plus petites (variation spatiale) dépendent fortement de l'heure de mesure.

#### 4. Oxygène dissous

Les valeurs observées de la concentration en oxygène dissous ( $O_2d$ ) ont présenté une variation spatiale importante pendant les campagnes de novembre 2004 et février 2005 avec une moyenne de 7.7 mg/L. Les concentrations atteignent 9 à 10 mg/L dans quelques endroits du nord de la lagune. La concentration en oxygène dissous baisse considérablement en mai et août 2005 avec une moyenne de 5 mg/L et une distribution spatiale plus homogène notamment en août **(Figure 4C)**.

## 5. pH

Les eaux de la lagune montrent une variation spatiale notable de leur pH pendant les campagnes de novembre 2004 et de février 2005 avec un pH moyen égal à 8. En mai et août 2005, une variation spatiale moindre a été observée. La distribution est particulièrement homogène en août **(Figure 4D)**. 17



Distribution spatiale des abondances moyennes des VB (a) t des BHC (b) dans l'eau.

Spatial distribution of the mean abundances of the VB (a) and the BHC (b) in the water.



## Figure 6

Distribution spatiale des abondances moyennes des VB (**a**) et des BHC (**b**) dans le sédiment.

Spatial distribution of the mean abundances of the VB (a) and the BHC (b) in the sediment.



#### Figure 7

Distribution spatiale des abondances des VB et des BHC dans l'eau pour chacune des campagnes d'échantillonnage : novembre 2004 (a), février (b), mai (c) et aout (d) 2005.

*Spatial distribution of the VB and the BHC abundance in the water in November* (*a*), *February* (*b*), *May* (*c*) *and August* (*d*) *campaigns.* 



## Figure 8

Distribution spatiale des abondances des VB et des BHC dans le sédiment pour chacune des campagnes d'échantillonnage : novembre 2004 (**a**), février (**b**), mai (**c**) et aout (**d**) 2005.

Spatial distribution of the VB and the BHC abundance in the sediment in November (**a**), February (**b**), May (**c**) and August (**d**) campaigns.





Distribution spatiale des coefficients de variation saisonnière des abondances des VB (**a**) et des BHC (**b**) dans les échantillons d'eau.

Spatial distribution of the coefficient of variation of the VB (**a**) and the BHC (**b**) in the water.

# Distribution spatiale des populations bactériennes dans la lagune

Les distributions spatiales des valeurs moyennes pour les deux populations bactériennes dans l'eau et dans le sédiment sont illustrées dans les figures 5 et 6 respectivement. Les résultats ont montré que les plus fortes concentrations en VB et en BHC dans l'eau ont été observées essentiellement au nord de la lagune, où elles peuvent dépasser la valeur de 10<sup>4</sup> et 10<sup>6</sup> cfu/100 mL respectivement pour les VB et les BHC **(Figure 5)**. Au niveau du sédiment, les abondances moyennes des différentes populations bactériennes sont 100 fois plus importantes que celles de l'eau. Les charges les plus élevées (> 10<sup>6</sup> et 10<sup>8</sup> cfu/100 mL respectivement pour les VB et les BHC) ont été observées dans le secteur ouest de la lagune pour les deux groupes bactériens, notamment en face du chenal de navigation **(Figure 6)**.

Des cartes des abondances en VB et en BHC pour chacune des campagnes effectuées (novembre 2004, février 2005, mai 2005 et août 2005) ont été réalisées afin d'illustrer les différentes distributions spatiales de ces populations bactériennes dans l'eau et le sédiment et de les corréler aux conditions météorologiques et physico-chimiques de la lagune.

# 1. Distribution spatiale des Vibrionaceae et des bactéries hétérotrophes cultivables dans l'eau

Les résultats relatifs aux dénombrements des populations bactériennes dans l'eau ont montré que leurs niveaux d'abondances durant la période d'étude ont été repartis entre 50 et 10<sup>5</sup> cfu/100mL pour les VB thermotolérants et entre 10<sup>4</sup> et 10<sup>8</sup> cfu/100 mL pour les BHC **(Figure 7)**. En novembre, les taux les plus élevés pour les deux populations bactériennes ont été observés essentiellement à l'extrémité nord-ouest (en face du chenal de navigation ainsi que la ville de Menzel Abderrahmane) et





Distribution spatiale des coefficients de variation saisonnière des abondances des VB (**a**) et des BHC (**b**) dans les échantillons de sédiment.

Spatial distribution of the coefficient of variation of the VB (**a**) and the BHC (**b**) in the water.

sur la côte sud-est (au niveau d'une zone mytilicole). En parallèle, un gradient de concentration croissante a été schématisé, ayant pour origine oued Tinja, indiquant un éventuel effet de dilution par les eaux douces en provenance du lac Ichkeul, suite aux fortes pluies. Ainsi, en février, une diminution des charges en VB dans toute la lagune (10<sup>3</sup>cfu/100 mL) a été notée. Par contre, les mêmes niveaux d'abondances ont été retrouvés pour les BHC.

Lors des campagnes de mai et août, une augmentation des concentrations a été observée (10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> cfu/100 mL) pour les VB, par contre le même profil d'abondance a été observé pour les BHC. Les concentrations les plus importantes en mai ont été localisées en face des oueds (secteurs riches en matière organique).

# 2. Distribution spatiale des Vibrionaceae et des bactéries hétérotrophes cultivables dans le sédiment

Les résultats relatifs aux dénombrements des populations bactériennes étudiées dans le sédiment ont montré que leurs niveaux d'abondances, pendant la période d'étude, ont été repartis entre 10<sup>4</sup> et 10<sup>6</sup> cfu/100 mL pour les VB et entre 10<sup>5</sup> et 10<sup>9</sup>cfu/100 mL pour les BHC **(Figure 8)**.

En novembre, des tendances de répartitions comparables ont été notées pour les VB et les BHC, indiquant des concentrations élevées en ces bactéries en face du chenal de navigation et des zones urbaines au nord et à l'ouest de la lagune.

Ensuite, une légère diminution des charges en VB a été notée en février (10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> cfu/100 mL). Cependant, les zones en face des zones urbaines et agricoles ont été le siège de fortes charges en BHC (10<sup>8</sup>-10<sup>9</sup> cfu/100 mL).

Lors des campagnes de mai et août, on a constaté une augmentation des charges en VB qui ont dépassé 106

	Pluviométrie	Durée d'ensoleillement (h)	Température (°C)	Salinité (psu)	Oxygène (mg/L)	рН
VB E	-0,85	0,80	0,91	0,91	-0,82	-0,29
BHC E	0,67	-0,65	-0,58	-0,28	0,69	-0,09
VB S	-0,98*	0,96*	1,00**	0,70	-0,97 *	-0,53
BHC S	0,71	-0,74	-0,58	0,09	0,74	0,34

\*: Corrélation significative au seuil de 0,05 ; \*\*: Corrélation significative au seuil de 0,01.

Matrice des corrélations (n=4) entre les moyennes saisonnières des VB et des BHC analysés dans l'eau (E) et dans les sédiments (S) et des paramètres abiotiques dans la lagune de Bizerte.

*Correlation* (n=4) of the seasonal mean of VB and BHC analyzed in the water (E) and the sediment (S) and the abiotic parameters in the Bizerta lagoon.

Mois	VB (cfu/100mL)	BHC (cfu/100mL)
Décembre 2004	7,3 10 <sup>3</sup>	4,02 104
Juillet 2005	1,54 10 <sup>5</sup>	1,6 10 <sup>5</sup>

Concentrations des VB et des BHC dans les palourdes de la zone de Menzel Jemil. *Bacterial abundance of VB and BHC in the clams of Menzel Jemil area.* 



#### Figure 11

Variation saisonnière de la concentration (cfu/100 mL) en VB (a) et en BHC (b) dans le site mytilicole de la lagune de Bizerte.

Seasonal variation of the abundance (cfu/100 mL) of VB (a) and BHC (b) in the shellfish farming area of the Bizerta lagoon.

cfu/100 mL avec apparition de nouveaux gradients en face du chenal de navigation et des zones urbaines et conchylicoles. Les mêmes répartitions spatiales que celle des VB, ont été observées pour les BHC avec des profils d'abondances toujours élevés. En août, le centre de la lagune a présenté un minimum (< 10<sup>6</sup> cfu/100 mL) pour les deux populations bactériennes. Afin de mieux illustrer l'intensité de variabilité saisonnière des concentrations bactériennes estimées, les valeurs des coefficients de variation obtenues à chaque station, pour chaque type de bactéries dans l'eau et dans le sédiment, ont été illustrées sur les figures 9 et 10 respectivement. Les valeurs de ces coefficients sont plus élevées au niveau de l'eau par rapport à celles du sédiment. Pour les VB, une variabilité importante a été observée sur les extrémités nord-est et nord-ouest dans les deux compartiments.

## Etude des corrélations

D'après les coefficients de corrélations trouvés **(Tableau I)**, Les concentrations moyennes en VB, dans l'eau et dans le sédiment, sont corrélées pendant les quatre campagnes de prospection significativement, et même très significativement, à la température (r = 0.91 et 1), à l'ensoleillement (r = 0.8 et 0.96) ainsi qu'à la salinité (r = 0.91 et 0.7) pour l'eau et le sédiment respectivement. Par contre, les concentrations en VB sont inversement corrélées à la pluviométrie (r = -0.85 et -0.98) et à la teneur en oxygène dissous (r = -0.82 et -0.97) pour l'eau et le sédiment respectivement.

Les charges moyennes en BHC ont été positivement corrélées à la pluviométrie (r = 0.67 et 0.71) et à la teneur en oxygène dissous (r = 0.69 et 0.74) pour l'eau et le sédiment respectivement.

Tableau I

# Variation des concentrations bactériennes dans le site mytilicole

La variation saisonnière des charges en VB et en BHC, au niveau du site mytilicole (nord-est de la lagune), dans les échantillons d'eau, de moules et du sédiment est illustrée dans la figure 11. La variation de ces deux populations bactériennes dans les palourdes du même site mytilicole est également représentée dans le tableau II. Les résultats obtenus ont montré que les concentrations des deux populations bactériennes sont relativement stables dans les moules et au niveau du sédiment. Par contre dans l'eau, une augmentation notable en VB (de 3 ULog) et une légère diminution en BHC (de 1 ULog) est enregistrée pendant la saison estivale. Quant aux palourdes, les valeurs en VB présentent une augmentation significative (de 2 ULog) pendant la saison estivale. Ces organismes vivant dans les sédiments concentrent plus de bactéries.

# Discussion

Les résultats de la distribution spatiale des abondances moyennes des VB thermotolérants et des BHC dans l'eau et les sédiments ont révélé un effet apparent de l'apport hydrique par le chenal de navigation au nord de la lagune. Il en a été déduit que ce chenal représente une source importante de contamination bactérienne et chimique dans la lagune de Bizerte (Ben Saïd *et al.*, 2010). Il est notable aussi que, pendant chaque saison, les répartitions spatiales en VB et en BHC dans l'eau et dans les sédiments sont souvent comparables. Selon Eilers *et al.* (2000) les vibrios représentent approximativement 10% (15 / 145 isolats) de la charge en bactéries marines cultivables.

Ces concentrations bactériennes sont 100 fois plus élevées dans les sédiments que dans l'eau, ce qui rejoint les résultats antérieurs de Dellali *et al.*, (2001) et Essid *et al.*, (2007). En effet, la richesse en composés organiques dans les sédiments induit une augmentation des populations en vibrios, suggérant que ces bactéries sont des indicateurs d'une accumulation organique dans les sédiments (La Rosa *et al.*, 2001).

Par ailleurs, l'étude de la distribution spatiale des facteurs abiotiques dans la lagune de Bizerte et l'orientation de leurs gradients sur les cartes réalisées, a montré que les deux premières campagnes de novembre 2004 et février 2005 ont marqué le début et la fin d'une période de fortes pluies (210 mm). Il en découle que la lagune est sous influence d'arrivées d'eaux douces, notamment en provenance de l'Oued Tinja (salinité inférieure à 20 psu). D'après le rapport de l'Agence Nationale de Protection de l'environnement (Said, Elloumi, 2007), les lâchers d'eaux douces en provenance du lac Ichkeul ont atteint 340 millions de m<sup>3</sup> durant l'hiver 2004-2005. Une baisse de la température de l'eau (< 12°C) associée à des courtes durées d'ensoleillement et à des taux élevés en oxygène dissout (> 7.7 mg/L) a été notée également.

Pendant cette saison hivernale, la diminution de la salinité, suite aux fortes pluies a engendré une décroissance des taux de VB, dans l'eau et les sédiments, qui ont été négativement corrélés avec la pluviométrie. Selon de nombreuses études, l'isolement de formes cultivables des vibrios parait difficile pendant la saison hivernale, attribué aux conditions défavorables du milieu notamment la baisse de la température et de la salinité (Janda, Bryant, 1987; Oliver, 1995; Maugeri et al., 2004; Thompson et al., 2004; Lhafi, Kühne, 2007). Inversement, les BHC ont été positivement corrélées avec la pluviométrie, suggérant l'effet des rejets du bassin versant, riches en matière organique, sur l'apport en bactéries allochtones dans les écosystèmes côtiers. Dans une étude antérieure décrivant la distribution spatiale des coliformes totaux et des entérocoques fécaux dans la lagune de Bizerte nous avons noté que la concentration en ces deux populations est plus importante en face des zones de rejets telluriques ou de celles exploitées par les activités anthropiques intenses (Boukef et al., 2009).

Pendant la saison estivale, (mai et août 2005) caractérisée par l'absence de pluies et un ensoleillement deux fois plus important qu'en hiver, une augmentation progressive de la salinité a été notée (salinité =36 psu, température =  $30^{\circ}$ C).

Pendant cette saison, la distribution spatiale des populations bactériennes a montré une augmentation en VB sur toute la lagune confirmée par une corrélation significativement positive à la température (r = 0.91 et 1 respectivement pour l'eau et le sédiment). Les taux en BHC sont stables. Dans le site mytilicole, une augmentation en charge des VB (3 ULog) dans l'eau en parallèle à une légère diminution dans les taux en BHC (1 ULog) a été notée. Parallèlement, une augmentation des VB dans les palourdes du même site mytilicole a été constatée. Ces résultats ont montré l'effet de l'élévation de la température et de la salinité sur la prolifération estivale des VB.

Ces résultats sont similaires à ceux de Randa *et al.* (2004) qui ont trouvé une corrélation positive entre l'abondance en vibrios, la température et la salinité dans les eaux côtières. De même, Castaneda Chavez *et al.* (2005) ont montré que l'abondance des *Vibrio cholerae* 

dans des échantillons d'huîtres (*Crassostrea virginica*) est corrélée significativement avec l'augmentation de la température. Par ailleurs, Stabili et *al.* (2005) soulignent une corrélation positive des charges en *Vibrionaceae* dans les moules et les sédiments avec la température de l'eau (r = 0.90 et r = 0.95). Selon ces auteurs les moules sont des réservoirs pour ces types de bactéries.

Il est à souligner que, les concentrations en bactéries les plus importantes ont été observées en face des zones côtières urbaines et/ou conchylicoles. Ces zones, seraient exposées aux rejets domestiques ou exploitées par des activités anthropiques, avec une richesse organique qui favorise la survie et la multiplication des bactéries allochtones et autochtones en ces lieux et en fait des zones à haut risque (La Rosa *et al.*, 2001 ; Essid *et al.*, 2007)

Il est à noter que l'extrémité nord-est de la lagune (au niveau du site mytilicole étudié) est le siège d'une pollution bactérienne permanente dans les sédiments faisant de ce compartiment un réservoir important en toute forme de bactéries notamment les vibrios. Ces résultats sont en accord avec ceux de Dellali *et al.* (2001) qui ont démontré que les sédiments dans la lagune de Bizerte en face de cette zone urbaine, ont été fréquemment pollués, notamment par les VB.

# Conclusion

La distribution spatio-temporelle des vibrios dans la lagune de Bizerte est sous l'effet des variations de la température, de la salinité ainsi que de la pluviométrie. De plus, les rejets du bassin versant, riches en matière organique, favorisent la prolifération de ces bactéries dans l'eau ainsi que leur pérennité dans les sédiments.

Pendant la saison estivale l'augmentation en charges des vibrios, pourrait être à l'origine de cas de mortalités estivales survenues dans le site mytilicole pendant la période d'étude, ce qui présente un risque sanitaire majeur pour l'activité conchylicole et aquacole dans le secteur. Il semble ainsi impératif de procéder à un contrôle plus rigoureux du risque de contamination par ces vibrios, notamment en période estivale en parallèle à une étude épidémiologique spécifiant les espèces les plus présentes.

# Bibliographie

## Ben Saïd O., M. Goñi Urriza, M. El Bour, R. Duran,

**P. Aissa**, 2010 - Diversité des bactéries capables de dégrader les hydrocarbures aromatiques polycycliques et résistantes aux métaux et aux antibiotiques isolées a partir des sédiments de la lagune de Bizerte, Tunisie. *Revue Microbiol. indust. Sanit. environ.*, **4** (1) : 32-48.

Boukef I., M. El Bour, S. El Mejri, B. Bjaoui, R. Mraouna, A. Harzallah, A. Boudabous, 2008 - Étude de l'influence des facteurs environnementaux sur la distribution de différentes populations bactériennes dans une station mytilicole de la lagune de Bizerte (Nord-Tunisie). *Revue Sci. Eau*, **21** (6) : 571-583.

Boukef I., M. El Bour, B. Bjaoui, A. Harzallah, M. Belhsa, R. Mraouna, S. El Mejri, A. Boudabous, 2009 - Etude de l'effet des facteurs du milieu sur la distribution des bactéries entériques dans la lagune de Bizerte. *Bull. Inst. natl Sci. tech. Mer*, **37** : 117-129.

Canesi L., M. Zampini, B. Repetto, E. Pezzati, A. M. Schito, L. Vezzulli, G. Gallo, C. Pruzzo, 2006 -*Vibrio* interactions with biotic and abiotic surfaces in seawater and links with pathogenicity. In: *Marine Sciences and Public Health*, CIESM workshop Monographs (31), Genève 27-30 September, pp : 73-76.

**Castaneda Chavez M., V.P. Sedas, E.O. Borunda, F.L. Reynoso,** 2005 - Influence of water temperature and salinity on seasonal occurrences of *Vibrio cholerae* and enteric bacteria in oyster-producing areas of Veracruz, Mexico. *Mar. Pollut. Bull.*, **50** : 1641-1648.

**Cavallo R.A., A. Stabili,** 2002 - Presence of *Vibrio* in seawater and *Mytilus galloprovincialis* (Lam) from the mar piccolo of Taranto (Ionian Sea). *Wat. Res.*, **36** : 3719-3726.

China B., M. De Schaetzen, G. Daube, 2003 - Les mollusques bivalves, des aliments dangereux ? *Annls Med. vet.*, 147 : 413-422.

**Dellali M., M. Elbour, P. Aissa,** 2001 - Caractérisation des populations bactériennes de *Vibrionaceae* de la lagune de Bizerte (Tunisie). *J. eur. Hydrol.*, **31** : 91-103.

**Dryselius R., K. Kurokawa, T. Lida,** 2007 - *Vibrionaceae*, a versatile bacterial family with evolutionarily conserved variability. *Res. Microbiol.*, **158** : 479-487.

**Dumontet S., K. Krovacek, S. B. Baloda, R. Grottoli, V. Pasquale, S. Vannuci,** 1996 - Ecological relationship between *Aeromonas* and *Vibrio spp.* and planktonic copepods in the coastal marine environment in southern Italy. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, **19** : 245-254.

**Eilers H., J. Pernthaler, F.O. Glockner, R. Amann,** 2000 - Culturability and *in situ* abundances of pelagic bacteria from the North Sea. *Appl. environ. Microbiol.*, **66** : 3044-3051.

#### Essid N., E. Mahmoudi, F. Boufahja, M. Dellali,

**H. Beyrem, P. Aissa,** 2007 - Impact des pseudo-feces de moules sur les densités des bactéries hétérotrophes dans le secteur mytilicole de la lagune de Bizerte (Tunisie). *Revue Sci. Eau*, **20** : 383-392.

Hassen A., M. Yoshida, S. Kouki, O. Bouzaiane, N. Saidi, Z. Taghouti, N. Jedidi, 2004 - *Microbial and physico-chemical characterization of repository sediment of Bizerte lagoon*, RPP-SEPMCL Final Report, March 2004 (INRST-JICA) pp : 91-101.

Janda J.M., R.G. Bryant, 1987 - Pathogenic *Vibrio sp*: an organism group of increasing medical significance. *Clin. Microbiol. Newslet.*, **9**: 49-56.

La Rosa T., S. Mirto, A. Marino, V. Alonzo,

**T.L. Maugeri, A. Mazzola**, 2001 - Heterotrophic bacteria community and pollution indicators of mussel-farm impact in the gulf of Gaeta (Tyrrhenian Sea). *Mar. environ. Res.*, **52** : 301-321.

**Lhafi S.K., M. Kühne,** 2007 - Occurrence of *Vibrio sp* in blue mussels (*Mytilus edulis*) from the Germen Wadden Sea. *Food Microbiol.*, **116 :** 297-300.

Licciano M., L. Stabili, A. Giangrande, R.A. Cavallo,

2007 - Bacterial accumulation by *Branchiomma lutuosum* (*Annelida: Polychaeta*): A tool for biomonitoring marine systems and restoring polluted waters. *Mar. environ. Res.*, **63** : 291-302.

Liew W.S., J.J. Leisner, G. Rusul, S. Radu, A. Rassip, 1998 - Survival of *Vibrio sp.* including inoculated *V. cholera* 0139 during heat-treatment of cockles (*Anadara granosa*). *Int. J. Food Microbiol.*, **42** : 167-173.

Mahmud Z.H., S.B. Neogi, A. Kassu, T. Wada, M. Sirajul Islam, G. Balakrish Nair, F. Ota, 2007 -Seaweeds as a reservoir for diverse *Vibrio parahaemolyticus* populations in Japan. *Int. J. Food Microbiol.*, **118**: 92-96.

**Maugeri T.L., D. Caccamo, C. Gugliandolo,** 2000 -Potentially pathogenic vibrios in barckish waters and mussels. *J. appl. Microbiol.*, **89** : 261-266.

Maugeri T.L., M. Carbone, M.T. Fera, G.P. Irrera, C. Gugliandolo, 2004 - Distribution of potentially pathogenic bacteria as free living and plankton associated in a marine coastal zone. *J. appl. Microbiol.*, **97** : 354-361.

**Maugeri T.L., M. Carbone, M.T. Fera, C. Gugliandolo,** 2006 - Detection and differention of *Vibrio vulnificus* in seawater and planktonic of a coastal zone of the Mediterranean Sea. *Res. Microbiol.*, **157** : 194-200.

**Oliver J.D.**, 1995 - Entry into, and resuscitation from, the viable but non cultivable state by *Vibrio vulnificus* in an estuarine environment. *Appl. environ. Microbiol.*, **61** : 2624-2630.

**Oppenheimer C.H., C.E. Zobell,** 1952- The growth and viability of sixty-three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. *J. mar. Res.*, **11** : 10-18.

**Randa M.A., M.F. Polz, E. Lim,** 2004 - Effect of temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* population dynamics as assessed by quantitative PCR. *Appl. environ. Microbiol.* **70** : 5469-5476.

Said M., M.J. Elloumi, 2007 - Prise en compte des besoins écologiques de l'Ichkeul dans la gestion de l'eau en Tunisie. In : *Gestion de la demande en eau en méditerranée, progrès et politiques*. 3ème Symposium à Saragosse, 19-21 mars 2007, PNUE - Plan Bleu.

**Stabili L., M. Immacolata, R.A. Cavallo,** 2005 - *Mytilus galloprovincialis* filter feeding on the bacterial community in a Mediterranean coastal area (Northern Ionian Sea, Italy). *Wat. Res.*, **39** : 469-477.

Thompson J.R., M.A. Randa, L.A. Marcelino, A. Tomita-Mitchell, E. Lim, M.F. Polz, 2004 - Diversity and dynamics of a North Atlantic coastal *Vibrio* community. *Appl. environ. Microbiol.*, **70** : 4103-4110.

Vezzulli L., E. Pezzati, B. Repetto, M. Stauder, G. Giusto, C. Pruzzo, 2008 - A general role for surface membrane proteins in attachment to chitin particles and copepods of environmental and clinical *Vibrios. Lett. App. Microbiol.*, 46 : 119-125.

Received June 2009 Accepted October 2010 Published electronically November 2010 www.marinelife-revue.fr