

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et
de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité/Option: Biologie Moléculaire et Cellulaire

Département: Biologie

Thème

Evaluation de l'effet génotoxique des eaux usées urbaines de la ville de Guelma

Présenté par:

- BENOUMHANI Besma
- MADI Nesrine

Devant le jury composé de :

Président :	BENOUARETH D.E.	Pr.	Université de Guelma
Examinatrice:	ABDA A.	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur :	TABET M.	M.C.B	Université de Guelma

Année universitaire: 2024/2025

Remerciements

Après avoir rendu grâce à dieu « ALLAH » le tout puissant et le miséricordieux, nous profitons de cette occasion pour remercier toute personne qui a contribué de près ou loin à la concrétisation de cet humble travail.

Nous adressons nos vifs remerciements aux membres de jury Pr. BENOURETH Djamel Eddine et Mme ABDA Ahlem pour bien vouloir accepter de juger notre travail.

Nous tenons aussi à exprimer nos vifs remerciements et notre profonde gratitude à notre encadrant Mme TABET Mouna, ses conseils, son encouragement et son dynamisme ont énormément facilité notre travail. Nous tenons à la remercier vivement pour tout.

Nous remercions également toute personne qui nous a aidé durant notre stage au sein de la station d'épuration Guelma, et au niveau du laboratoire pédagogique de notre faculté, auprès desquelles on a trouvé l'aide et l'assistance dont nous avions besoin.

Dédicace

*En premier lieu je remercie **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.*

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce modeste travail à:

♥Mes parents♥

*Mon cher papa **Hocine** et ma douce maman **Djamila** qui ont œuvré pour ma réussite, par l'amour, le soutien, l'encouragement et surtout les précieux conseils. Mes magnifiques parents aucune dédicace ne peut exprimer ce que vous méritez pour tout le bonheur, le plaisir, le confort et les sacrifices que vous ne cessez jamais à me donner durant toute ma vie.*

Vous êtes la raison de ma naissance.

L'école de mon enfance.

Et le guide de ma vie.

J'espère que vous êtes fier de m'avoir ici et que j'ai pu vous offrir le fruit de longues années de privations. Je vous aime et que dieux vous garde pour nous Inchaallah.

♥A mon cher mari Yassine♥

Qui n'a pas cessé de m'encourager, me dénoncer et d'attendre mes succès tout au long de cette année et d'être fier de moi, merci énormément.

♥A ma petite fille Alyne♥

Ma princesse, J'espère que tu seras fier d ta maman et que tu suivras les traces de succès prochainement, Je vous souhaite tous le bonheur du monde, je t'aime.

♥A mes adorables sœurs♥

***Nada, Dounia, Soumia** et son mari **Houari** ainsi que son fils **Teym**, juste votre atteinte de ma soutenance, votre joie de ma réussite, me donne une forte énergie pour mieux travailler et une grande patience pour ne jamais désespérer.*

♥A Mon seul doux frère Saïd♥

Je profite de cette occasion pour te dire « je t'aime », et je te souhaite un prompt rétablissement.

♥A ma belle- famille♥

Qui m'a donné de l'aide durant cette dure année, Merci à tous.

BESMA

DEDICACE

Je dédie ce travail

À ma chère maman Nadjima

Peu importe ce que je fais ou dis, je ne pourrai jamais te remercier comme tu le mérites. Ton amour me protège, ta gentillesse me guide, et ta présence m'a toujours donné la force de surmonter les difficultés.

À mon cher papa Yazid

Tu as toujours été là pour me soutenir et m'encourager. Ce travail est une façon pour moi de te montrer toute ma gratitude et mon affection.

À mon mari Med Ramzi

Merci pour ton amour et ton aide chaque jour. Grâce à toi, j'ai pu faire ce travail. J'espère que tu verras dans ce travail le fruit de ton soutien.

À mon fils Zayene Charaf Eddine

Que j'aime très fort. Pardon si je n'ai pas toujours eu assez de temps pour toi à cause de ce travail.

À mes chères sœurs Rawia et Manar

Merci pour votre soutien et pour l'intérêt que vous avez toujours montré pour mon travail. Votre motivation m'a beaucoup aidée.

À ma belle famille

*A tous ceux qui m'ont encouragé, de près ou de loin
Enfin à tous ceux que j'aime et à tous ceux qui m'aiment.*

Nesrine

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumés

Introduction..... 1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les eaux usées

1. Définition des eaux usées..... 2

2. Origine des eaux usées 2

2.1. Eaux usées domestiques..... 2

2.2. Eaux usées industrielles..... 2

2.3. Eaux agricoles 3

2.4. Eaux pluviales 3

3. Composition des eaux usées 3

3.1. Microorganismes 3

3.1.1. Virus 3

3.1.2. Bactéries 4

3.1.3. Champignons 4

3.1.4. Protozoaires 4

3.1.5. Helminthes 5

3.2. Eléments traces, minéraux ou organiques 5

3.2.1. Métaux lourds 5

3.2.2. Eléments toxiques organiques 6

3.3. Substances nutritives 6

4. Caractéristiques des eaux usées..... 6

4.1. Paramètres physiques-chimiques..... 6

4.1.1. Température..... 6

4.1.2. Potentiel d'hydrogène (pH)..... 6

4.1.3. Conductivité électrique (CE)..... 7

4.1.4. Matières en suspension 7

4.1.5. Turbidité 7

4.1.6. Demande biologique en oxygène (DBO₅)..... 7

4.1.7. Demande chimique en oxygène (DCO)..... 7

Chapitre 2 : Tests de génotoxicité

1. Définition de la génotoxicité..... 8

2. Agents génotoxiques.....	8
2.1. Génotoxiques directs	8
2.2. Génotoxiques indirects	8
3. Tests de génotoxicité	8
3.1. Test de micronoyaux (MNx)	8
3.2. Test d'Ames.....	9
3.3. Test de comète.....	10
3.4. Test des échanges entre chromatides sœurs (ECS).....	11
3.5. Test des aberrations chromosomiques.....	11
3.5.1. Test des aberrations chromosomiques dans les racines d' <i>Allium cepa</i>	11
3.5.1.1. Présentation générale d' <i>Allium cepa</i>	11
3.5.1.2. Critères de cytotoxicité et génotoxicité	12
-Elongation racinaire	12
- Indice mitotique (IM).....	12
- Aberration chromosomiques (AC)	13

Partie expérimentale

Chapitre 3 : Matériel et méthodes

1. Description du site d'étude.....	14
1.1. Localisation	14
1.2. Etapes du traitement d'épuration.....	14
1.2.1. Prétraitement.....	14
1.2.1.1. Dégrillage.....	15
1.2.1.2. Dessablage.....	15
1.2.1.3. Dégraissage- déshuilage.....	15
1.2.2. Traitement primaire.....	16
1.2.3. Traitement secondaire (biologique).....	17
2. Echantillonnage.....	17
3. Caractérisation physico-chimique.....	18
4. Test de génotoxicité	18
4.1. Matériel biologique.....	18
4.2. Test des aberrations chromosomiques.....	19
4.2.1. Traitement des bulbes.....	19
4.2.2. Élongation racinaire.....	19
4.2.3. Fixation et conservation des extrémités racinaires.....	20

4.2.4. Coloration des racines.....	21
4.2.5. Préparation des lames	21
4.2.6. Examen microscopique.....	21

Chapitre 4 : Résultats et discussion

1. Résultats des paramètres physico-chimiques.....	22
1.1. Température	22
1.2. PH.....	22
1.3. Conductivité	23
1.4. Turbidité	24
1.5. Salinité	25
2. Résultats du test de génotoxicité (test d' <i>Allium cepa</i>).....	26
2.1. Longueur des racines	26
2.2. Indice mitotique	27
2.3. Aberrations chromosomiques	29

Conclusion	32
-------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

AC: Aberrations chromosomiques.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

BrdU : Bromodésoxyuridine.

CE: Conductivité électrique.

DBO5 : Demande biologique en oxygène

DCO : Demande chimique en oxygène.

ECS : Echange de chromatides sœurs.

HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques.

HCL: Acide chlorhydrique.

His : Histidine.

IM: Indice mitotique.

JORA: Journal Officiel de la République Algérienne.

MES : Matières en suspension.

MMS: Méthyle méthane sulfonât.

MNx : Micronoyaux.

ONA: Office national de l'assainissement.

PAT: Perturbation anaphase-télophase.

PC: Pont chromosomique.

pH : Potentiel hydrogène.

STEP: Station d'épuration.

Listes des figures

Figure 01: Schématisation de la formation de micronoyaux.....	9
Figure 02: Principe d'application du test d'Ames.....	10
Figure 03: Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de l'ADN	10
Figure 04: Localisation de la station d'épuration de la ville de Guelma	13
Figure 05: Dégrillage	14
Figure 06: Dessablage-déshuilage.....	15
Figure 07: Décanteur primaire.....	15
Figure 08: Décantation biologique.....	16
Figure 09: Entrée et sortie de la station.....	17
Figure 10: Multiparamètre HI9829.....	17
Figure 11: Exposition des bulbes d' <i>Allium cepa</i> aux différents échantillons	18
Figure 12: Mesure de la longueur racinaire	19
Figure 13: Fixation des extrémités racinaires dans le Carnoy	19
Figure 14: Préparation des lames.....	20
Figure 15: Variation des valeurs de la température des différents échantillons d'eaux usées	21
Figure 16: Variation des valeurs du pH des différents échantillons testés.....	22
Figure 17: Variation des valeurs de la conductivité des différents échantillons testés.....	23
Figure 18: Variation des valeurs de la turbidité des différents échantillons des eaux usées...	24
Figure 19: Variation des valeurs de la salinité des différents échantillons des eaux usées....	25
Figure 20: Longueurs des Racines d' <i>Allium cepa</i>	26
Figure 21: Phases mitotiques des racines d' <i>Allium cepa</i>	28
Figure 22: Aberrations chromosomiques détectées dans les racines d' <i>Allium cepa</i>	30

Listes de tableaux

Tableau 1: Classification systématique de l'oignon (<i>Allium cepa</i>).....	12
Tableau 2: Résultats de la longueur des racines d' <i>Allium cepa</i>	26
Tableau 3 : Effet des échantillons testés sur l'IM et les phases mitotiques.....	27
Tableau 4: Pourcentages des AC détectées dans les racines d' <i>Allium cepa</i>	30



Résumés

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer la génotoxicité des eaux usées brutes et épurées issues de la station d'épuration de la ville de Guelma pendant (Février et Mars 2025), au moyen du test des aberrations chromosomiques dans les racines *d'Allium cepa*. Certains paramètres physicochimiques (pH, Température, Conductivité, Salinité et Turbidité) ont été également mesurés.

Les analyses physico-chimiques ont révélé que la plupart des paramètres mesurés sont conformes aux normes de rejet direct en milieu naturel, tandis que la turbidité demeure particulièrement élevée, indiquant une concentration excessive de particules en suspension dépassant les seuils autorisés.

Les résultats de l'effet génotoxique ont montré une inhibition de la croissance des racines traitées et une diminution dans l'indice mitotique. Des anomalies chromosomiques caractéristiques telles que les chromosomes vagabonds, les ponts, les condensations anormales et les perturbations anaphase-télophase ont été observées, témoignant d'un stress génotoxique causé par les composants présents dans les eaux testées.

Mots clés: Eaux usées, Station d'épuration, Test d'*Allium cepa*, cytotoxicité, génotoxicité, paramètres physicochimiques.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the genotoxicity of raw and treated wastewater from the wastewater treatment plant of the city of Guelma during February and March 2025, using the chromosomal aberration test in the roots of *Allium cepa*. Some physicochemical parameters (pH, temperature, conductivity, salinity, and turbidity) were also measured.

The physicochemical analyses revealed that most of the measured parameters are in accordance with the standards for direct discharge into the natural environment, while turbidity remains particularly high, indicating an excessive concentration of suspended particles exceeding the authorized limits.

The results of the genotoxic effect showed an inhibition of root growth in the treated samples and a decrease in the mitotic index. Characteristic chromosomal abnormalities such as lagging chromosomes, bridges, Stickness, and disturbances in anaphase-telophase were observed, indicating genotoxic stress caused by components present in the tested waters.

.

Keywords: Wastewater, *Allium cepa* Test, cytotoxicity, genotoxicity, Wastewater Treatment Plant, physicochemical parameters.

المخلص

الهدف من هذا العمل هو تقييم السمية الوراثية للمياه المستعملة الخام والمعالجة الصادرة عن محطة تطهير مياه مدينة قالمة خلال شهري فيفري ومارس 2025، وذلك باستخدام اختبار التشوهات الكروموسومية في جذور نبات البصل (*Allium cepa*) كما تم قياس بعض المعايير الفيزيوكيميائية مثل درجة الحموضة (pH) ، درجة الحرارة، الناقلية، الملوحة، ودرجة تعكر الماء.

أظهرت التحاليل الفيزيوكيميائية أن معظم المعايير المقاسة مطابقة للمعايير المعتمدة للتصريف المباشر في الوسط الطبيعي، في حين ظلت درجة تعكر مرتفعة بشكل خاص، مما يشير إلى تركيز مفرط للجزيئات العالقة يتجاوز الحدود المسموح بها.

أما نتائج اختبار السمية الوراثية فقد أظهرت تثبيطاً في نمو الجذور المعالجة وانخفاضاً في معامل الانقسام الخيطي (المؤشر الانقسامي). كما لوحظت تشوهات كروموسومية مميزة مثل les ponts

Les chromosomes vagabonds, les condensations anormales et les perturbations anaphase-télophase، مما يدل على وجود ضغط وراثي (سُمية وراثية) ناتج عن المكونات الموجودة في المياه المختبرة.

الكلمات المفتاحية: مياه الصرف الصحي، اختبار *Allium cepa* ، السمية الخلوية، السمية الجينية، محطة معالجة مياه الصرف الصحي، المعايير الفيزيوكيميائية.



Introduction

Introduction

Les eaux usées constituent un réservoir important de polluants organiques et inorganiques, représentant ainsi un problème majeur pour l'environnement. Elles contiennent divers contaminants tels que des métaux lourds, des composés organiques persistants, des résidus pharmaceutiques, des pesticides et des agents pathogènes. Leur rejet, qu'il soit direct ou après traitement insuffisant, peut entraîner la dégradation des écosystèmes aquatiques, la contamination des ressources en eau potable et des risques pour la santé humaine (**Jolibois et al., 2009 ; Matter et al., 2014**).

Le seul moyen de caractériser la génotoxicité des échantillons d'eaux repose sur les tests biologiques, qui produisent une réponse globale au mélange complexe de produits chimiques sans aucune connaissance préalable de la composition du mélange ou de ses propriétés chimiques. Parmi ces tests figurent les test bactériens (le test d'Ames, SOS chromotest etc...) et les bioessais utilisant des plantes supérieures tels que l'analyse des aberrations chromosomiques et le test de micronoyaux (**Ohe et al., 2004 ; Abda, 2015 ; Kassa, 2021**).

Parmi les modèles végétaux couramment employés pour évaluer la génotoxicité des composés testés, *l'Allium cepa*, qui offre une approche pratique, rapide et sensible permettant de détecter la présence de génotoxines et de mutagènes environnementaux (**Kassa, 2021**).

Notre étude a pour but d'évaluer l'efficacité du traitement d'épuration des eaux usées urbaines de la ville de Guelma et sa capacité à éliminer les composés génotoxiques en appliquant le test de génotoxicité d'*Allium cepa*.

Ce mémoire est divisé en 2 parties:

- Partie bibliographique avec deux chapitres
 - Le premier chapitre concerne les généralités sur les eaux usées.
 - Le deuxième chapitre traite les tests de génotoxicité.
- Partie expérimentale avec deux chapitres:
 - Le premier chapitre porte sur la description du site d'étude ainsi que le matériel et les méthodes d'analyse utilisées.
 - le deuxième chapitre sera consacré à la présentation des résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Une conclusion générale clôturera ce travail.



Partie bibliographique



Chapitre 1

Généralités sur les eaux usées

1. Définition des eaux usées

«La pollution de l'eau s'entend comme une modification défavorable ou nocive des propriétés physicochimiques et biologiques, produite directement ou indirectement par les activités humaines, les rendant impropres à l'utilisation normale établit ».

Les eaux usées sont toutes les eaux des activités domestiques, agricoles et industrielles chargées en substances toxiques qui parviennent dans les canalisations d'assainissement. Les eaux usées englobent également les eaux de pluies et leur charge polluante, elles engendrent au milieu récepteur toutes sortes de pollution et de nuisance (**Metahri, 2012**).

2. Origine des eaux usées

2.1. Eaux usées domestiques

Les eaux usées proviennent des différents usages domestiques de l'eau, elles se composent essentiellement des éléments suivants :

- ✓ **Excréments humains:** Ces eaux, appelées eaux noires, sont chargées en matières organiques, azotées et phosphatées, ainsi qu'en germes fécaux.
- ✓ **Eaux ménagères:** Issues des activités de vaisselle, de lessive et de nettoyage, elles sont appelées eaux grises car elles contiennent des détergents et des graisses.
- ✓ **Eaux de toilette:** Ces eaux sont également classées parmi les eaux noires en raison de leur charge en matières organiques et en germes fécaux (**Metahri, 2012**).

2.2. Eaux usées industrielles

Elles diffèrent considérablement des eaux résiduelles domestiques, leurs propriétés fluctuent d'une industrie à l'autre. Outre les matières organiques, azotées ou phosphorées, elles contiennent une multitude de composés chimiques organiques et métalliques. Selon leur provenance industrielle, elles peuvent aussi inclure:

- ✓ Des graisses (secteur agroalimentaire, équarrissage).
- ✓ Des hydrocarbures (raffineries).
- ✓ Des métaux (traitement de surface, métallurgie).
- ✓ Des acides, des bases et divers produits chimiques (divers secteurs chimiques, tanneries).
- ✓ De l'eau chaude (systèmes de refroidissement des centrales thermiques).
- ✓ Des substances radioactives (centrales nucléaires, gestion des déchets radioactifs).

Avant leur introduction dans les systèmes de collecte, les eaux usées industrielles nécessitent un traitement. Ils ne sont intégrés aux eaux domestiques que

lorsqu'ils ne représentent aucun risque pour les réseaux de collecte et ne gênent pas le fonctionnement des stations d'épuration (**Metahri, 2012**).

2.3. Eaux agricoles

L'agriculture contribue de manière significative à la pollution de l'eau en introduisant des engrais et des pesticides. Elle constitue la source principale des pollutions diffuses. Les eaux agricoles provenant de terres cultivées fertilisées avec des engrais nitrés et phosphatés, soit sous forme ionique ou en volume tel qu'ils ne seraient pas finalement retenus par le sol et assimilés par les plantes, entraînent par ruissellement un enrichissement en composés azotés ou phosphatés des nappes aquifères superficielles et des eaux des rivières (**Metahri, 2012**).

2.4. Eaux pluviales

L'eau de pluie s'écoule dans les rues où sont amassés des contaminants atmosphériques, des particules, des déchets, des suies de combustion et des hydrocarbures émis par les véhicules. Les eaux de pluie sont généralement rassemblées conjointement avec les eaux usées, Transférées dans le réseau d'assainissement et dirigées vers une station de traitement, elles sont fréquemment évacuées directement vers les rivières, provoquant ainsi une contamination sévère de l'environnement aquatique (**Metahri, 2012**).

3. Composition des eaux usées

La composition des eaux usées est extrêmement variable en fonction de leurs origines (industrielles, domestiques, etc.). Elles peuvent contenir de nombreuses substances, sous forme solide ou dissoute, ainsi que de nombreux micro-organismes.

En fonction de leurs caractéristiques physiques, chimiques, biologiques et du danger sanitaire qu'elles représentent, ces substances peuvent être classées en quatre groupes: les microorganismes, les matières en suspension (MES), les éléments traces minéraux ou organiques, et les substances nutritives (**Baumont et al., 2005**).

3.1. Microorganismes

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale est accompagnée d'organismes pathogènes. L'ensemble de ces organismes peut être classé en quatre grands groupes: les bactéries, les virus, les protozoaires et les helminthes (**Belaid, 2010**).

3.1.1. Virus

Ce sont des organismes infectieux de très petite taille (10 à 350 nm) qui se reproduisent en infectant un organisme hôte. Les virus ne sont pas naturellement

présents dans l'intestin, contrairement aux bactéries. Ils sont présents soit intentionnellement (après une vaccination contre la poliomyélite, par exemple), soit chez un individu infecté accidentellement. On estime leur concentration dans les eaux usées urbaines comprise entre 10^3 et 10^4 particules par litre. Leur isolement et leur dénombrement dans les eaux usées restent difficiles, ce qui conduit vraisemblablement à une sous-estimation de leur nombre réel. Les virus entériques sont ceux qui se multiplient dans le trajet intestinal. Parmi les virus entériques humains les plus nombreux, nous citerons les entérovirus (exemple: Polio), les rota virus, les rétrovirus, les adénovirus et le virus de l'hépatite A. Il semble que les virus soient plus résistants dans l'environnement que les bactéries (**Aulicino et al., 1996 ; Baumont et al., 2005**).

3.1.2. Bactéries

Les microorganismes les plus fréquemment présents dans les eaux usées sont les bactéries. On estime que les eaux usées urbaines renferment environ 10^6 à 10^7 bactéries par 100 ml, majoritairement des *Proteus* et Entérobactéries, suivis de près par les streptocoques avec 10^3 à 10^4 par 100 ml et enfin les *Clostridium*s dont la présence varie de 10^2 à 10^3 par 100 ml.

Le niveau de bactéries pathogènes se situe autour de 10^4 UFC/l. On retrouve fréquemment parmi les bactéries identifiées, les Salmonelles, y compris celles qui causent la typhoïde, les paratyphoïdes et divers troubles intestinaux (**Belaid, 2010**).

3.1.3. Champignons

Les champignons représentent un ensemble d'organismes tout à fait immense (environ 1,5 million d'espèces, dont 69 000 identifiées) et hautement varié. On les trouve dans une variété d'habitats aquatiques ou terrestres. La plupart de ces micro-organismes sont saprophytes, cependant certains d'entre eux sont des parasites pour l'homme, les animaux et les plantes. Avec des caractéristiques lytiques significatives qui les positionnent comme des agents de décomposition redoutables mais aussi comme des alliés bénéfiques (en produisant des enzymes), les champignons ont une importance cruciale pour l'équilibre biologique (**Belaid, 2010**).

3.1.4. Protozoaires

Les protozoaires sont des organismes unicellulaires munis d'un noyau, plus complexes et plus gros que les bactéries. La plupart des protozoaires pathogènes sont des organismes parasites, c'est-à-dire qu'ils se développent aux dépens de leur hôte.

Certains protozoaires adoptent au cours de leur cycle vital une forme de résistance, appelée kyste qui peut être véhiculé par les eaux résiduaires. Cette forme peut résister généralement aux procédés de traitements des eaux usées (**Baumont et al., 2005**). Ainsi, selon les conditions du milieu, ces organismes peuvent survivre plusieurs semaines voire même plusieurs années. En revanche, 10 à 30 kystes, est une dose suffisante pour causer des troubles sanitaires (**Campos, 2008 ; Baumont et al., 2005**).

3.1.5. Helminthes

Les helminthes sont des vers multicellulaires. Tout comme les protozoaires, ce sont majoritairement des organismes parasites. La concentration en œufs d'helminthes dans les eaux usées est de l'ordre de 10 à 10³ œufs par litre. Parmi les plus notables, on peut citer: *ascaris lumbricades*, *Oxyuris vermicularis*, *Trichuris trichuria*, *Taenia saginata* (**Djeddi, 2006**).

3.2. Eléments traces, minéraux ou organiques

Les micropolluants organiques et non organiques résultent d'une pollution multiple et complexe. Les micropolluants sont des éléments présents en quantité infinitésimale dans les eaux usées. La voie de contamination principale, dans le cas d'une réutilisation des eaux usées épurées, est l'ingestion. C'est la contamination par voie indirecte qui est généralement préoccupante. Ainsi, certains micropolluants, comme les métaux lourds ou les pesticides, peuvent s'accumuler dans les tissus des êtres vivants, et notamment dans les plantes cultivées. Il peut donc y avoir une contamination de la chaîne alimentaire et une concentration de ces polluants dans les organismes. La crispation actuelle de l'opinion publique à leur sujet, et le manque de connaissances sur leurs effets à long terme incite à analyser avec soin la nature et la présence de ces micropolluants dans les eaux usées (**Baumont et al., 2005**).

3.2.1. Métaux lourds

Il existe une multitude de métaux lourds présents dans les eaux usées urbaines, ceux qui y sont les plus courants (de l'ordre de quelques µg/l) incluent le fer, le zinc, le cuivre et le plomb. On trouve également des traces d'autres métaux tels que le manganèse, l'aluminium, le chrome, l'arsenic, le sélénium, le mercure, le cadmium, le molybdène, le nickel, etc... Leur provenance est diverse: ils sont issus «des produits largement utilisés par la population, de la dégradation des matériaux des systèmes de distribution d'eau et d'assainissement, des eaux de pluie lorsqu'il s'agit d'un réseau

unitaire, des services (santé, automobile) et potentiellement des rejets industriels» **(Baumont et al., 2009).**

3.2.2. Eléments toxiques organiques

Les eaux usées renferment des composés chimiques toxiques hautement persistants et fortement lipophiles. On peut mentionner parmi ces substances les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les alkyl-phénols, chlorophénols, phtalates, pesticides et résidus actifs de médicaments. Certains composés, comme les HAP et les alkylphénols, peuvent altérer le système endocrinien. Effectivement, ces composés ainsi que d'autres substances pharmaceutiques, dont la source principale est l'eau usée, ont contaminé divers écosystèmes aquatiques. Il s'est révélé que les stations d'épuration peuvent être des sources potentielles de ces substances toxiques **(Belgiorno et al., 2007 ; Belaid, 2010).**

3.3. Substances nutritives

L'eau usée contient une abondance de nutriments, qui représentent un critère de qualité essentiel pour leur valorisation dans l'agriculture et la gestion des paysages. On retrouve couramment dans les eaux usées des éléments tels que l'azote, le phosphore, et de façon occasionnelle, le potassium, le zinc et le soufre. On retrouve ces composants en quantités significatives, mais avec des proportions très fluctuantes, que ce soit dans les eaux usées traitées ou non **(Hamoda, 2004 ; Belaid, 2010).**

4. Caractéristiques des eaux usées

4.1. Paramètres physico-chimiques

4.1.1. Température

La température est un facteur écologique crucial. Elle influence la densité de l'eau et joue un rôle primordial dans les phénomènes de stratification des lacs et des mers. Une élévation de la température peut perturber fortement le milieu, mais elle peut aussi être un facteur d'accroissement de la productivité biologique **(Bedouh, 2014).**

4.1.2. Potentiel d'hydrogène (pH)

Les organismes sont très sensibles aux variations du pH, et un développement correct de la faune et de la flore aquatique n'est possible que si sa valeur est comprise entre 6 et 9. L'influence du pH se fait également ressentir par le rôle qu'il exerce sur les autres éléments comme les ions des métaux dont il peut diminuer ou augmenter leur mobilité en solution bio disponible et donc leur toxicité. Le pH joue un rôle important dans l'épuration d'un effluent et le développement bactérien. La

nitrification optimale ne se fait qu'à des valeurs de pH comprises entre 7,5 et 9 (Rodier, 2005).

4.1.3. Conductivité électrique (CE)

La CE mesure la capacité de l'eau à conduire le courant électrique entre deux électrodes. La plupart des substances dissoutes dans l'eau sont présentes sous forme d'ions chargés électriquement. Ainsi, la mesure de la CE permet d'évaluer la quantité de sels dissous dans l'eau (Eddabra, 2011). Cette mesure est utile, car au-delà de la valeur limite de salinité correspondant à une CE de 2500 $\mu\text{S}/\text{cm}$, la prolifération des microorganismes peut être réduite, entraînant ainsi une baisse de l'efficacité épuratoire (Metahri, 2012).

4.1.5. Matières en suspension (MES)

Elles représentent, la fraction constituée par l'ensemble des particules, organiques ou minérales, non dissoutes de la pollution. Elles constituent un paramètre important qui marque bien le degré de pollution d'un effluent urbain ou même industriel (Metahri, 2012).

4.1.6. Turbidité

La turbidité est inversement proportionnelle à la transparence de l'eau. Elle est un indicateur clé de la pollution, signalant la présence de matière organique ou minérale sous forme colloïdale en suspension dans les eaux usées. La turbidité varie en fonction de MES présentes dans l'eau (Metahri, 2012).

4.1.7. Demande biologique en oxygène (DBO5)

Elle exprime la quantité d'oxygène utilisée par les bactéries, à 20°C et à l'obscurité, pendant 5 jours pour oxyder par voie biologique les matières organiques présentes dans l'eau usée. Pour être complète, l'oxydation biologique nécessite de 21 à 28 jours, mais la mesure de la DBO est limitée à 5 jours (DBO5), car au-delà, débute le processus aérobie de nitrification (oxydation des matières azotées) (Metahri, 2012).

4.1.8. Demande chimique en oxygène (DCO)

La DCO correspond à la quantité d'oxygène (mg/l) consommée par voie chimique pour oxyder toutes les matières oxydables présentes dans l'eau. Ce paramètre est particulièrement utilisé pour évaluer la pollution des effluents industriels (Bedouh, 2014).



Chapitre 2

Tests de génétoxicité

1. Définition de la génotoxicité

La génotoxicité, appelée également toxicité génétique, représente la capacité de certains agents physiques ou chimiques (dits génotoxiques) à provoquer des dommages à l'acide désoxyribonucléique (ADN) qui peuvent conduire à des mutations génétiques si ces lésions ne sont pas réparées. Le terme de génotoxicité a été utilisé pour la première fois par Hermann Druckrey à une conférence internationale sur les cancérigènes environnementaux: «Pour décrire la résultante d'une interaction chimique avec le matériel génétique, le terme de génotoxicité est proposé comme l'expression générale des effets toxiques, létaux et héréditaires du matériel génétique dans les cellules germinales ou somatiques» (Schins, 2002).

2. Agents génotoxiques

Il existe deux types d'agents génotoxiques:

2.1. Génotoxiques directs: qui sont capables de modifier directement la structure de l'ADN générant par exemple des cassures de brins, des adduits ou des lésions des bases.

2.2. Génotoxiques indirects: qui induisent des effets toxiques en agissant, non pas avec l'ADN, mais avec la machinerie cellulaire qui maintient l'intégrité du génome tels que les protéines de fuseau mitotique, les enzymes impliquées dans la réparation ou la réplication de l'ADN, les protéines impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire, etc...(Botta, 2006 ; Mateuca et al., 2006).

3. Tests de génotoxicité

Les tests de génotoxicité et de mutagénicité ont pour but de mettre en évidence l'induction de modifications (dommages à l'ADN, mutations, transformations cellulaires *in vitro* etc...) considérées comme plus ou moins prédictives d'un potentiel mutagène et donc cancérigène. Les tests les plus fréquemment utilisés sont les tests d'Ames, la mesure des adduits à l'ADN, les tests des comètes, des micronoyaux (MNx), et le test des aberrations chromosomiques (AC) (Tarantini, 2009).

3.1. Test des micronoyaux

Le test des MN_x est réalisé *in vivo* chez les mammifères afin de détecter des altérations des chromosomes ou de l'appareil mitotique au niveau des érythroblastes, provoquées par l'exposition à une substance testée. Ce test repose sur l'analyse des érythrocytes prélevés dans la moelle osseuse et/ou dans le sang périphérique, généralement chez des rongeurs.

L'objectif du test de MN est d'identifier les substances susceptibles d'induire des lésions cytogénétiques, ainsi que la formation de MN_x, lesquels contiennent soit des fragments chromosomiques, soit des chromosomes entiers. Lorsqu'un érythroblaste issu de la moelle osseuse évolue en érythrocyte poly chromatique, son noyau principal est expulsé. Toutefois, tout micronoyau formé peut rester présent dans le cytoplasme, qui est alors dépourvu de noyau principal. Cette absence de noyau facilite l'observation des MN_x.

Une augmentation de la fréquence des MN_x dans les érythrocytes poly chromatiques chez les animaux exposés constitue un indicateur de dommages chromosomiques (**Schimed, 1997**).

La figure 01 représente schématiquement les mécanismes de formation des MN_x après blocage en cytodièrese.

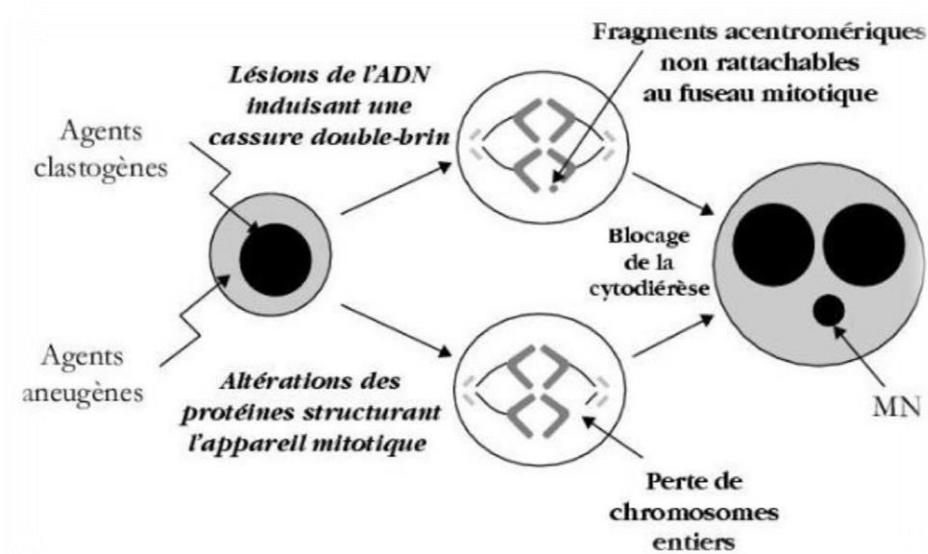


Figure 01: Schématisation de la formation de MN_x (**Darolle, 2010**).

3.2. Test d'Ames

Le test d'Ames, développé en 1973 par Bruce Ames, évalue le potentiel mutagène d'une substance en observant la réversion de mutations sur l'opéron histidine (His⁻) chez *Salmonella typhimurium* (**Cheriot, 2007**) (**Fig.02**). Les souches auxotrophes ne peuvent croître sans histidine, sauf si une mutation réverse les rend His⁺. Une augmentation de cette fréquence de réversion indique un effet mutagène.

Plusieurs souches génétiquement modifiées sont utilisées pour détecter divers types de mutations:

- ✓ **His D 3052** (TA1538, TA98): Détecte les mutations frameshift.
- ✓ **His G 46** (TA1535, TA100): Détecte les substitutions de paires de bases.
- ✓ **His C 3076** (TA1537): Frame shift par insertion de cytosine.
- ✓ **Rfa**: Augmente la perméabilité bactérienne aux grosses molécules.
- ✓ **UvrB**: Supprime le système de réparation, augmentant la sensibilité.
- ✓ **Plasmide pKM101** (TA98, TA100): Ce plasmide porte le gène de résistance à l'ampicilline (R-Factor), ces souches portant le facteur de résistance se révertent par des mutagènes qui sont faiblement détectés par les autres souches, PKM101 qui contient deux gènes amplifiant le processus SOS de réparation responsable de la mutagenèse induite (**Mortelmans & Zeiger, 2000**).

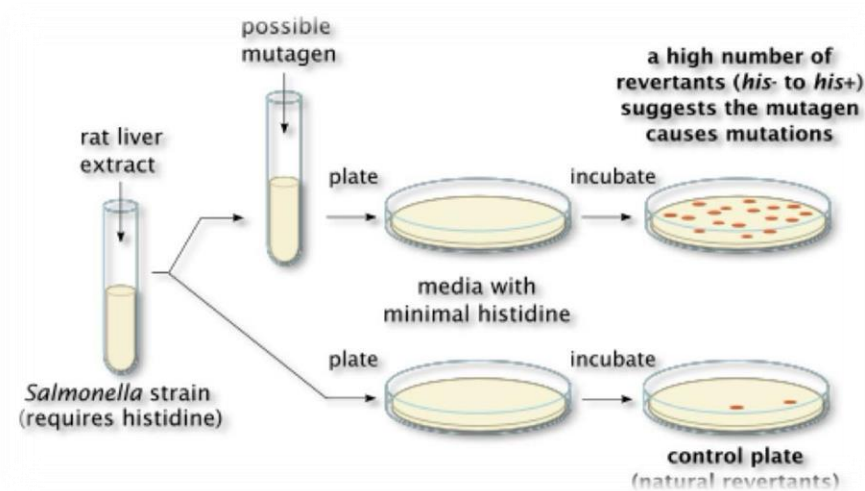


Figure 02: Principe d'application du test d'Ames (**Maron et Ames, 1983**).

3.3. Test de comète

Le test des comètes permet de quantifier les lésions primaires de l'ADN, notamment les cassures de l'ADN, qui représentent une des lésions à forte probabilité d'apparition après exposition à des agents mutagènes. Sur le plan technique, ce test des comètes (ou single cell gel électrophorèses assay) correspond à une technique d'électrophorèse sur micro gel d'agarose permettant de détecter des fragmentations de l'ADN de cellules individualisées. (**Collins, 2004**) (**Fig.03**).

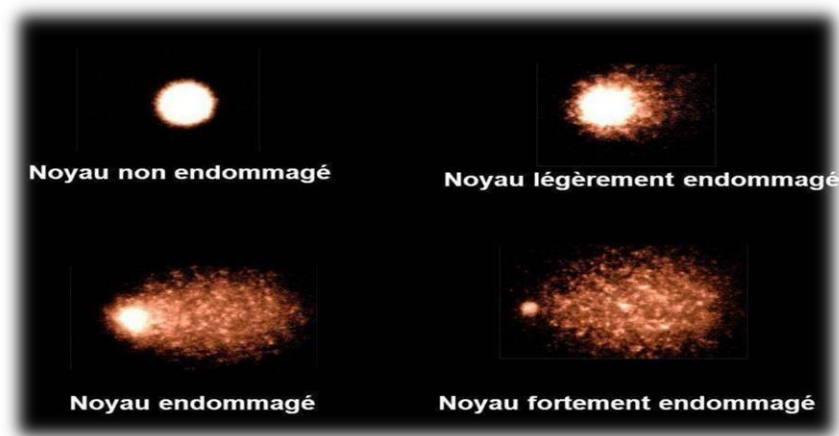


Figure 03: Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de l'ADN (Moche, 2015).

3.4. Test des échanges entre chromatides sœurs (ECS)

L'ECS indique des remaniements de l'ADN à l'intérieur d'un chromosome donné, cela représente un échange intégral et bilatéral entre les deux chromatides sœurs qui a eu lieu lors d'une mitose effectuée *in vitro*.

Cela implique l'exposition des cellules à la 5-bromodésoxyuridine (BrdU) sur deux cycles de réplication. Par la suite, après utilisation d'un inhibiteur du fuseau comme la colchicine pour bloquer les cellules en phase métaphase de la mitose, les cellules sont rassemblées et les chromosomes sont préparés pour être observés grâce à la technique de fluorescence (Russo, 2000 ; Ortega, 2004).

3.5. Test des aberrations chromosomiques

Le test des AC consiste à examiner au microscope optique et déceler des anomalies telles que des cassures de chromosomes avec ou sans délétion, des modifications de structures et d'appariements, des erreurs survenues en cours de mitose (échanges entre chromatides sœurs etc...). Cet examen se fait au cours de la métaphase de la mitose. La fréquence des aberrations est évaluée sur 200 mitoses par lames de microscope. L'augmentation de la fréquence des aberrations chromosomiques est prédictive de la survenue de cancers (Tarantini, 2009).

3.5.1. Test des aberrations chromosomiques dans les racines d'*Allium cepa*

3.5.1.1. Présentation générale d'*Allium cepa*

L'oignon, aussi connu sous le nom d'*Allium cepa* ($2n=16$), fait partie de la famille des alliacées. Cette plante est couramment cultivée dans divers pays en raison de son emploi alimentaire. Son caryotype contient cinq paires de chromosomes, dont la taille varie de 8 à 16 micromètres, et les centromères sont placés de façon médiane à submédiane. Deux ensembles

de chromosomes montrent des centromères situés à une position submédiane, alors qu'une autre paire présente des chromosomes satellites. On peut utiliser diverses sortes d'oignons, comme une variété à bulbes réduits, une variété américaine à bulbes jaunes de grande taille, et une autre mexicaine à petits bulbes, connue en France sous le nom d'oignon blanc printanier, pour des objectifs d'évaluation. On utilise fréquemment l'*Allium cepa* pour examiner différents paramètres de toxicité et de génotoxicité. Dans le domaine de la toxicité, l'allongement racinaire d'*Allium cepa* est fréquemment évalué en parallèle avec les recherches sur la génotoxicité. Ce critère offre une meilleure reproductibilité et une mesure plus aisée, étant donné que les racines d'*Allium* se développent de façon très uniforme et constituent un groupe de racines de longueur similaire (Tabet, 2015). Le tableau 01 présente la classification systématique de l'oignon (*Allium cepa*).

Tableau 1: Classification systématique de l'oignon (*Allium cepa*) (Bedouh, 2014).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Spermatophyta
Classe	Liliopodia
Ordre	Liliales
Famille	Liliaceae
Genre	<i>Allium L</i>
Espèce	<i>Allium cepa L</i>

3.5.1.2. Critères de cytotoxicité et génotoxicité

- Elongation racinaire

Elle a été mesurée pour évaluer les effets cytotoxiques potentiels des extraits sur la croissance des racines d'*Allium cepa*. Une réduction significative de la longueur des racines est interprétée comme un effet toxique ou génotoxique.

- Indice mitotique (IM)

Calculé en exprimant le nombre de cellules en division par le nombre total de cellules observées. Une baisse de l'indice mitotique indique une inhibition de la mitose, ce qui reflète une cytotoxicité ou une génotoxicité potentielle.

- Aberrations chromosomiques

Les types d'AC observées comprennent: ponts chromosomiques, chromosomes vagabonds, perturbation anaphase-métaphase (PAT), condensation des chromosomes etc. Leurs fréquence est utilisée pour évaluer les effets mutagènes ou génotoxiques des extraits testés. **(Liman et al., 2010).**



Partie expérimentale



Chapitre 3

Matériel et Méthodes

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'efficacité du traitement de la STEP de la ville de Guelma et sa capacité à éliminer les composées génotoxiques éventuellement présent dans les eaux usées et ceci par l'utilisation du test des AC dans les racines d'*Allium cepa*.

La partie pratique de notre étude a été réalisée au sein du laboratoire pédagogique de notre faculté.

1. Description du site d'étude

1.1. Localisation

La STEP de Guelma est située sur la route nationale N°21, à proximité d'Oued Seybouse, à la sortie de l'agglomération de la ville de Guelma. Elle est fonctionnelle depuis le 18 Février 2008 à raison d'un traitement d'environ 43000 m³/jour collectées par deux stations de relevage (pompage), l'une de oued Lemaiz, et la seconde au niveau de point de rejet de oued Skhoun, ces eaux épurées sont reversées dans l'oued Sybouse (ONA, 2011).

La station est implantée sur un terrain agricole de 7.8 hectares avec une capacité de 200000 équivalent / habitant. Elle utilise le procédé de culture libre (boues activées) comme procédé d'épuration (ONA, 2011) (Fig.04).



Figure 04: Localisation de la station d'épuration de la ville de Guelma (1).

1.2. Etapes du traitement d'épuration

1.2.1. Prétraitement

Le prétraitement inclut une série d'opérations physiques ou mécaniques conçues pour séparer les eaux usées des substances volumineuses, en suspension ou flottantes, qu'elles transportent (ONA, 2011).

Ces démarches consistent en:

1.2.1.1. Dégrillage

C'est la première étape de prétraitement. Elle sert à arrêter les déchets solides volumineux par faire passer l'eau usée par un dégrilleur dont l'espacement des barreaux varie entre 6 et 100 micromètre.

Le dégrillage permet d'éliminer les déchets solides volumineux, et son efficacité dépend de l'espacement inter -barreaux des dégrilleurs utilisés.

Le nettoyage de la grille se fait soit automatiquement ou manuellement et les déchets sont ensuite évacués avec les ordures ménagères (ONA, 2011) (Fig.05).



Figure 05: Dégrillage (Photo personnelle, 2025).

1.2.1.2. Dessablage

Les eaux dégrillées sont dirigées vers un bassin appelé « dessableur », au fond duquel le sable se dépose. Les sables sont ensuite essorés, puis lavés avec de l'eau industrielle avant d'être envoyé en décharge ou réutilisés selon la qualité du lavage (ONA, 2011) (Fig.06).

1.2.1.3. Dégraissage- déshuilage

Le dégraissage a pour objectif d'éliminer les graisses présentes dans les eaux usées. Cette opération repose sur l'injection d'air à l'aide d'un dispositif appelé Aeroflot. L'air injecté (riche en oxygène) favorise la remontée des graisses à la surface du bassin. Ces graisses flottantes sont ensuite récupérées à l'aide d'un pont racleur, puis dirigées vers une fosse à graisses. Les agents d'exploitation procèdent régulièrement à la vidange de cette fosse. Les graisses collectées sont ensuite acheminées vers un site de traitement ou de stockage spécifique, afin d'éviter toute pollution de l'environnement (ONA, 2011) (Fig.06).



Figure 06: Dessablage-déshuilage (2025).

1.2.2. Traitement primaire

Le traitement primaire est une étape complémentaire au prétraitement. Il s'agit de récupérer par décantation les particules fines en suspension de diamètre supérieur à 100 micromètre.

Les MES s'accumulent au fond du bassin de décantation (boues primaires) où elle sont régulièrement extraites par un pont radial tournant puis orienté vers le traitement des boues (ONA, 2011) (Fig.07).



Figure 07: Décanteur primaire (2025).

1.2.3. Traitement secondaire (biologique)

Le traitement biologique est une phase essentielle dans une STEP, il sert à éliminer les impuretés solubles qui sont essentiellement des matières organiques biodégradables.

Le principe de ce procédé consiste à la dégradation de la charge polluante présente dans les eaux usées en utilisant l'activité des microorganismes qui s'agglomèrent sous forme de floccs au sein de liquide à traiter.

L'épuration biologique au niveau de la STEP de Guelma est basé sur les techniques biologiques aérobie (boues activés) qui consiste à provoquer en présence d'oxygène une prolifération microbienne plus ou moins contrôlée, puis l'envoi des boues riches en bactéries vers le bassin d'aération (ONA, 2011) (Fig.08).



Figure 08: Décantation biologique (2025).

2. Echantillonnage

Les échantillons d'eau usée ont été prélevés au niveau de deux sites: Entrée de la station (S1) et la Sortie de la station (S2) (Fig.09).

Les prélèvements ont été réalisés durant les périodes suivantes: Février 2025 (P1) et Mars 2025 (P2). Les flacons contenant les échantillons des eaux usées à analyser sont transportés dans un environnement isotherme à 4 ° C.

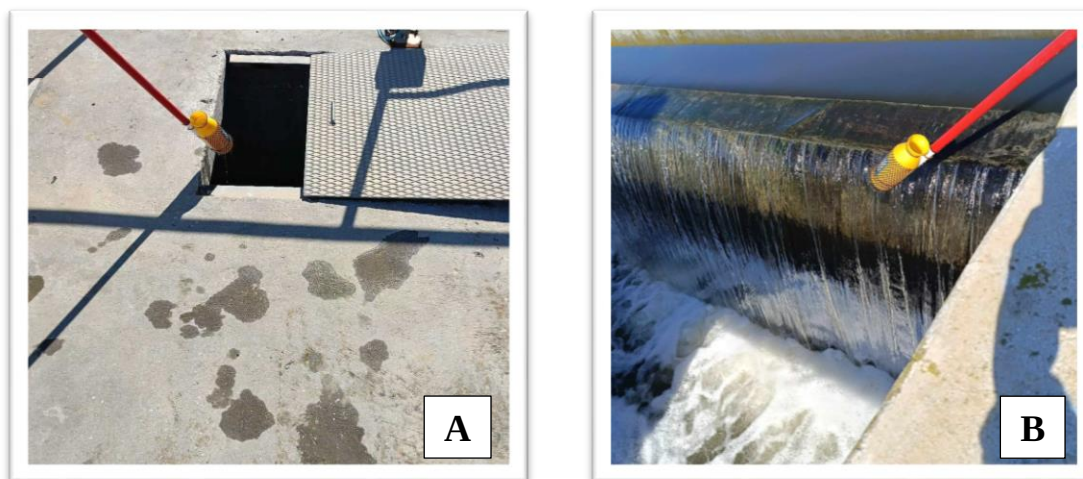


Figure 09: Entrée et sortie de la station. (A) Entrée, (B) sortie (2025).

3. Caractérisation physico-chimique

Le pH, La CE, la température, la salinité, la turbidité, ont été mesurés in situ à l'aide d'un multiparamètre de marque HI9829 (Fig.10).



Figure 10: Multiparamètre HI9829 (2025).

4. Test de génotoxicité

4.1. Matériel biologique

La plante *Allium cepa* est le matériel végétal utilisé dans notre étude. Des bulbes d'oignon ($2n = 16$) de variété violette, en bonne santé et de taille approximativement uniforme, ont été achetés dans un supermarché local.

4.2. Test des AC

Le protocole expérimental utilisé pour le test des AC dans les racines d'*Allium cepa* est celui décrit par **Liman et al. (2010)**.

4.2.1. Traitement des bulbes

Des bulbes d'oignon sont cultivés dans de l'eau distillée à température ambiante pendant 48h à l'obscurité dans un endroit aéré. Les bulbes germés sont placés dans des gobelets en plastique contenant les échantillons à tester (l'eau brute et l'eau épurée) et l'eau distillée comme contrôle négatif, de sorte que seules les racines soient immergées et ceci pendant 24h dans un endroit obscur (**Fig.11**). Pour le contrôle positif, on a pris les résultats cités dans le travail de **Tabet et al. (2015)**.



Figure 11: Exposition des bulbes d'*Allium cepa* aux différents échantillons (2025).

4.2.2. Élongation racinaire

L'élongation racinaire a été évaluée en mesurant la longueur des racines des bulbes d'oignon après 24 heures d'exposition aux trois échantillons: Eau distillée (témoin négatif), eau brute et eau épurée (**Fig.12**).



Figure 12: Mesure de la longueur racinaire (2025).

4.2.3. Fixation et conservation des extrémités racinaires

Les deux derniers centimètres des racines traitées sont prélevés et placés dans une solution de Carnoy pendant une nuit à 4°C (**Fig.13**). La solution de Carnoy (éthanol/acide acétique glacial 3v/1v) est préparée ex-temporairement afin d'éviter l'estérification. L'éthanol a pour effet de précipiter et dénaturer les protéines, de dissoudre certains lipides et de durcir les tissus, et l'acide acétique est un bon fixateur des chromosomes, il précipite les protéines du noyau. La conservation des extrémités racinaires est effectuée dans de l'éthanol 70% à 4°C.



Figure 13: Fixation des extrémités racinaires dans le Carnoy (2025).

4.2.4. Coloration des racines

Pour la coloration, les extrémités racinaires sont hydrolysées dans de l'acide chlorhydrique (HCL 1N) à 60 °C pendant 8 min. Elles sont ensuite rincées à l'eau distillée (3fois/5min) et colorées avec le feulgen pendant une durée de 20 à 25 min à l'obscurité.

4.2.5. Préparation des lames

Après la coloration, les racines sont rincées à l'eau distillée pendant 2minutes. La partie foncée de chaque racine est coupée en très petits morceaux avec un scalpel. La préparation est obtenue en écrasant les racines avec une goutte d'acide acétique glacial à 45 % en plaçant la lamelle et en appuyant physiquement sur un papier filtre. Après cette étape, une couche du vernis à ongle transparent est appliquée pour fermer les lamelles et empêcher la solution de s'évaporer (**Fig.14**).

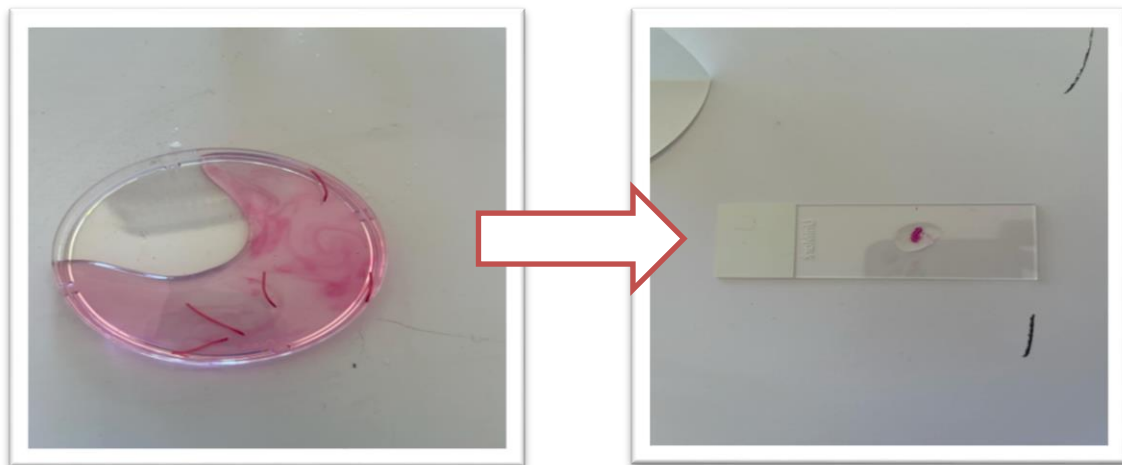


Figure 14 : Préparation des lames (2025).

4.2.6. Examen microscopique

L'observation des cellules racinaires a été effectuée par des microscopes optiques. Pour l'IM 1000 cellules par lames ont été examinées (grossissement 640) en prenant compte tous les stades de mitose (prophase/métaphase/anaphase/télophase) et pour les AC 100 cellules par lame ont été examinées (grossissement 960). Les types des AC observées: PAT, Condensation des chromosomes, chromosome vagabond et pont chromosomique.



Chapitre 4

Résultats et Discussion

1. Résultats des paramètres physico-chimiques

1.1. Température

Les résultats des mesures de température sont présentés dans la figure 15.

Durant notre étude les valeurs de la température obtenues varient entre (13.1°C et 18.3°C). La valeur maximale a été enregistrée au niveau du S1 et S2 pendant P2. La valeur la plus faible a été enregistrée au niveau du S2 durant P1.

Les valeurs enregistrées sont inférieures à 30°C considérée comme valeur limite de rejets (**JORA, 2006**) (**voir annexe 2**). De même, ces valeurs sont inférieures à 35°C, considérée comme valeur limite indicative pour les eaux destinées à l'irrigation (**Tabet et al., 2015**).

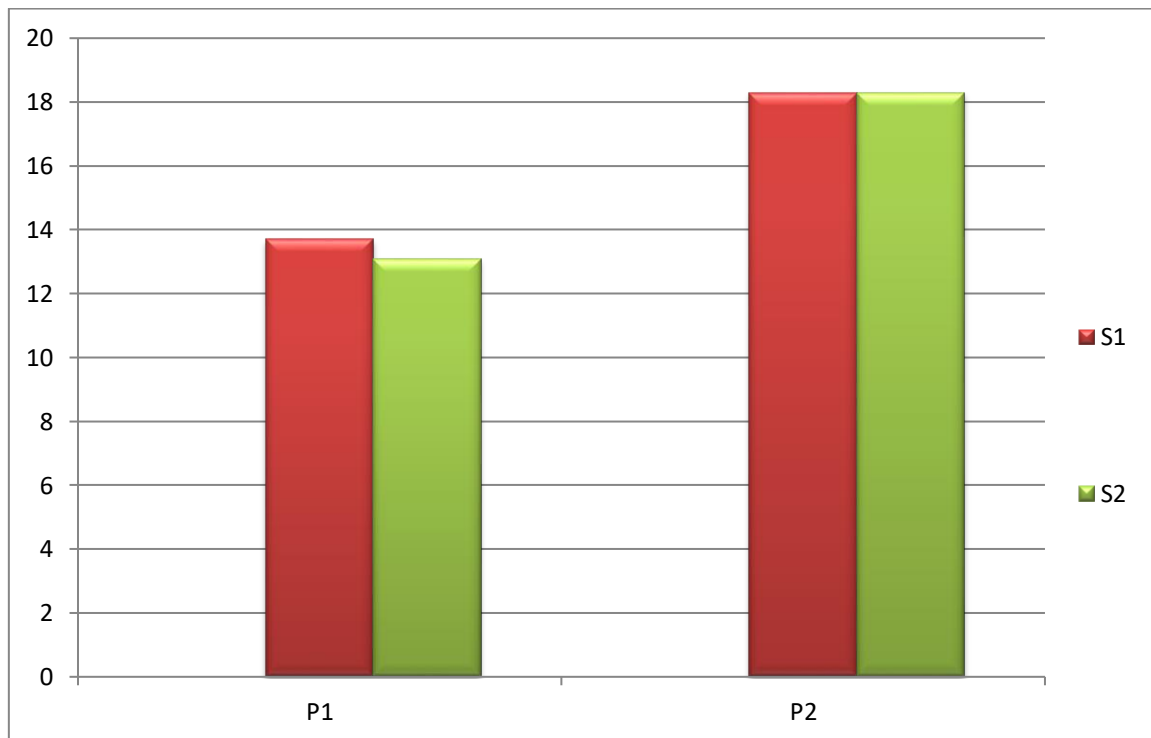


Figure 15: Variation des valeurs de la température des différents échantillons des eaux usées.

1.2. pH

Les valeurs obtenues du pH des eaux usées brutes varient entre (7.47 et 7.55) durant les deux prélèvements (**Fig.16**). Elles sont légèrement alcaline ce qui confirme que l'effluent est d'origine urbaine (**Latifi, 2018**). Ces résultats sont en accord avec les normes des eaux destinées à l'irrigation (**JORA, 2012**) (**voir annexe 2**). De plus elles sont entre 5.5 et 8.5

considérées comme valeurs limites des rejets directs dans le milieu récepteur (**JORA, 2006**) (**voir annexe 2**).

On note une légère différence entre le pH de l'eau épurée et celui de l'eau brute, ceci est due probablement aux réactions chimiques et/ou biologiques qui produisent des ions acides ou qui consomment des ions basiques, d'ailleurs les réactions de nitrification entraînent une acidification du milieu (**Latifi, 2018**).

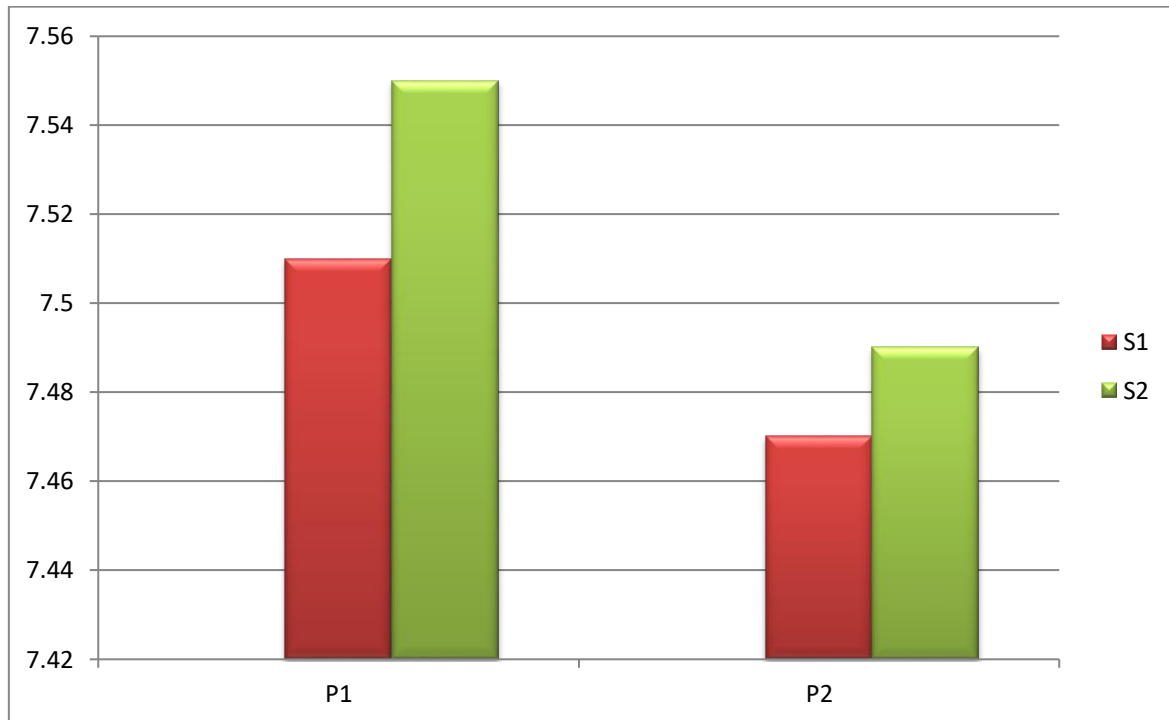


Figure 16: Variation des valeurs du pH des différents échantillons testés.

1.3. Conductivité

La CE est probablement l'une des plus simples et des plus importantes pour le contrôle de la qualité des eaux usées. Elle traduit le degré de minéralisation globale, elle nous renseigne sur le taux de salinité (**Hachi et al., 2016**).

Les valeurs enregistrées de la CE de l'eau brute varient entre (1143 μ s/cm et 1339 μ s/cm), et celles obtenues pour l'eau épurée sont comprises entre (1114 μ s/cm et 1140 μ s/cm) (**Fig.17**).

Ces valeurs sont inférieures à 2700 μ s/cm, considérée comme valeur limite de rejet direct dans le milieu récepteur et inférieures à la valeur maximale 3000 μ s/cm des eaux destinées à l'irrigation (**Azami Idrissi, 2015 ; Hachi et al., 2016**).

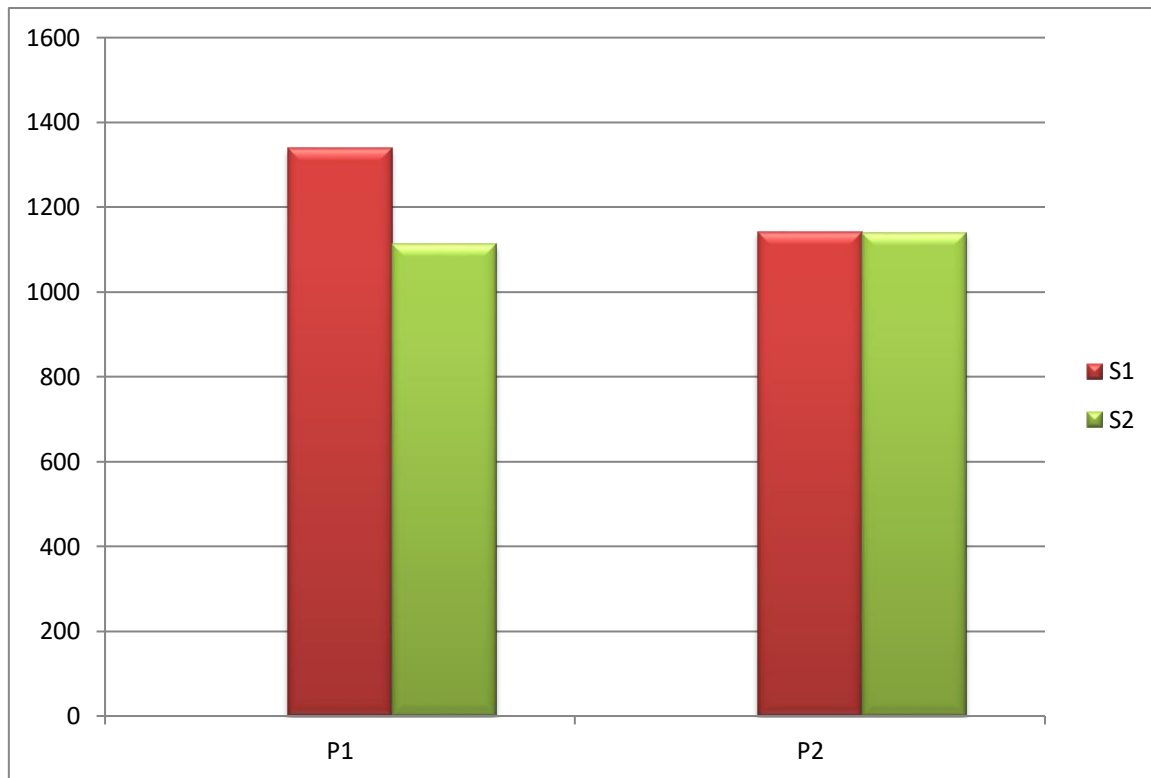


Figure 17: Variation des valeurs de la CE des différents échantillons testés.

1.4. Turbidité

Les mesures de turbidité ont un grand intérêt dans le contrôle de l'épuration des eaux usées. Plus la turbidité est faible plus le traitement de l'eau est plus efficace (**Aweleh, 2009**).

La figure 18 représente les mesures de turbidité des eaux usées brutes et épurée durant les deux prélèvements où nous avons observé une différence entre les valeurs de la turbidité des eaux brutes (76.8 UTN et 82.5 UTN) et celle des eaux épurées (11 UTN et 23.8 UTN) pour les deux prélèvements. Cette différence est due à la filtration opérée sur les eaux brutes lors du processus de traitement (**Malloum et al., 2015**).

Les résultats obtenus sont supérieurs à 5UTN, considérée comme valeur maximale acceptable de l'OMS, ce qui permet de conclure que les eaux usées de la ville de Guelma sont fortement chargées en matières organiques et minérales (**Malloum et al., 2015**).

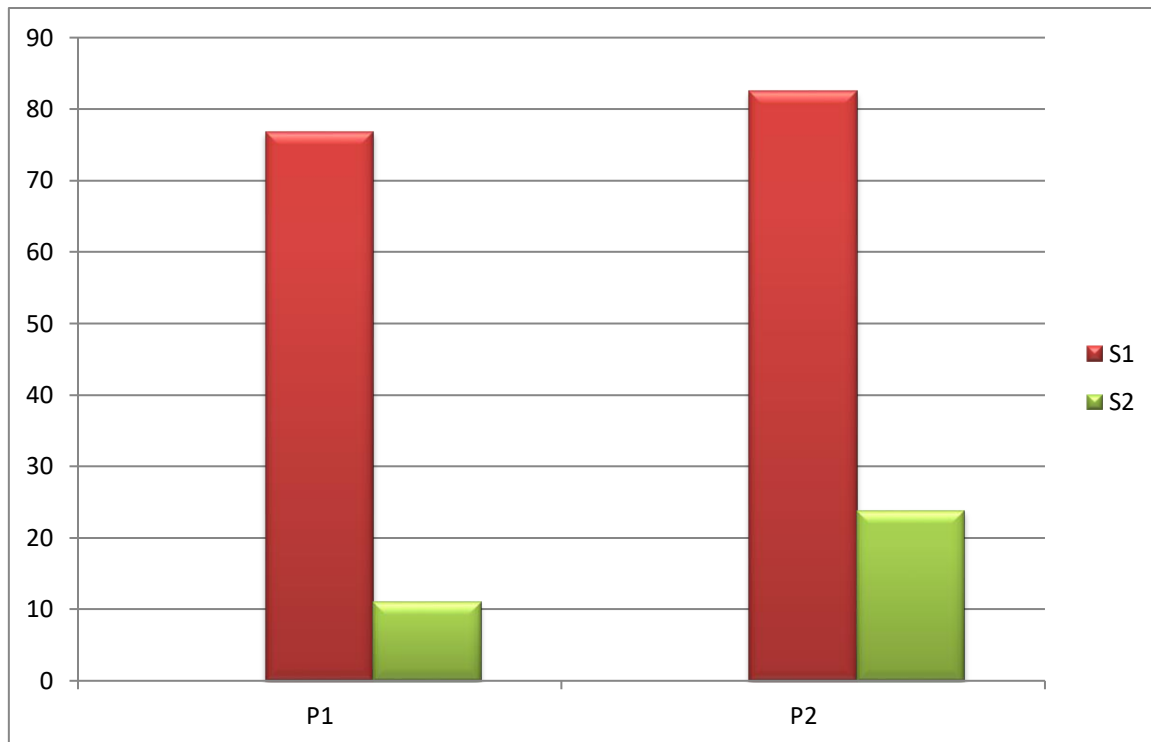


Figure 18: Variation des valeurs de la turbidité des différents échantillons des eaux usées.

1.5. Salinité

La salinité est une mesure de la concentration des minéraux dissous dans l'eau. En générale, elle suit les mêmes tendances que la CE (**Azami Idrissi, 2015 ; Khengaoui, 2017**).

Les résultats obtenus montrent que la salinité varie entre (571.5mg/l -669.5 mg/l) et (557mg/l -570mg/l) pour les eaux brutes et les eaux épurées respectivement et ceci durant les deux prélèvements (**Fig.19**).

La comparaison de ces valeurs avec les normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation montrent que ces eaux sont acceptables pour l'irrigation des cultures (inférieur a 76800mg/l) (**Hachi et al., 2017**).

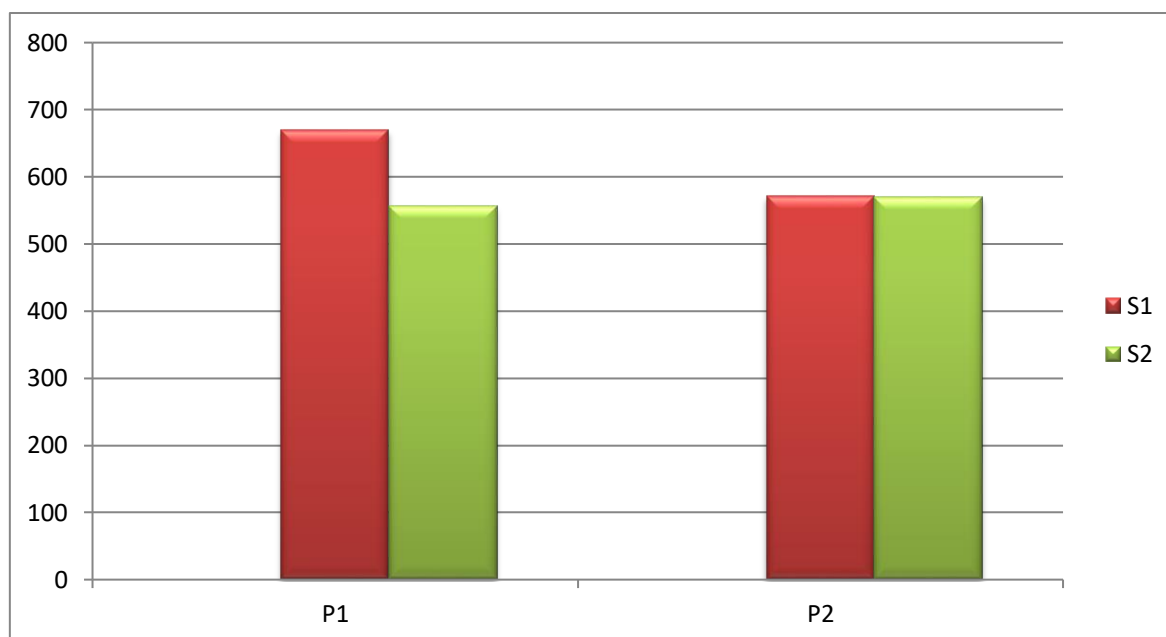


Figure 19: Variation des valeurs de la salinité des différents échantillons des eaux usées.

2. Résultats du test de génotoxicité (test d'*Allium cepa*)

L'évaluation de la génotoxicité des eaux usées prélevées a été effectuée par l'analyse de la longueur des racines, l'IM et la fréquence des AC.

2.1. Longueur des racines

Les résultats obtenus des différents échantillons sont présentés dans le tableau 2 et montrent que le contrôle négatif représente la longueur la plus élevée (2.47 ± 0.88).

On remarque une diminution de la longueur des racines traitées par les échantillons d'eaux usées prélevés du S1 (1.18 ± 0.42 et 1.4 ± 0.927) et du S2 (1.66 ± 0.45 et 1.6 ± 0.725) et ceci pour P1 et P2 respectivement (**Fig.20**).

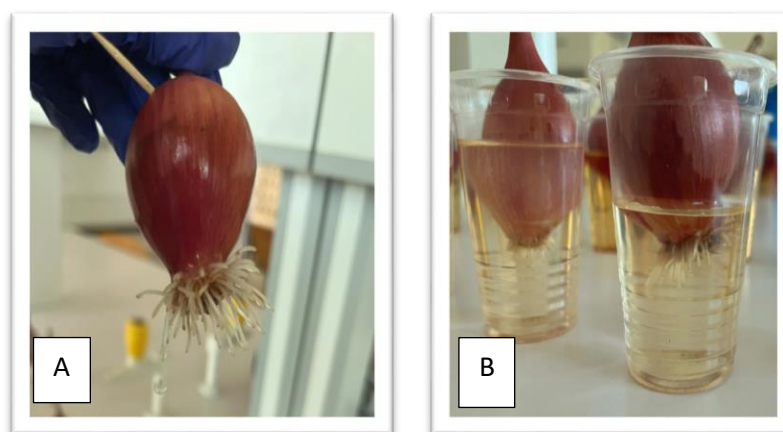
Cette diminution indique que les échantillons testés provoquent une inhibition de la croissance des racines, cette dernière est liée à l'activité méristématique apicale, l'élongation cellulaire au cours de la différenciation, et l'inhibition de la synthèse des protéines (**Fusconi et al., 2006 ; Liman et al., 2010 ; Cresencio et al., 2017**).

Les résultats obtenus durant notre travail sont en accord avec ceux trouvés par **Tabet et al. en 2015** et **Kassa en 2021**.

Tableau 2: Résultats de la longueur des racines d'*Allium cepa*.

	Moyenne de la Longueur des racines (cm) $\pm$ SD		
prélèvement	EB	EE	Contrôle négatif
P1	1,18 $\pm$ 0.42	1.66 $\pm$ 0.45	2.47 $\pm$ 0.88
P2	1.4 $\pm$ 0.927	1.6 $\pm$ 0.725	

EB:Eau brute, EE: Eau épurée, SD: Ecart type, P: Prélèvement.

**Figure 20:** Longueur des Racines d'*Allium cepa*

(A) contrôle négatif, (B) échantillons testés (2025).

2.2. Indice mitotique

Les résultats de l'IM et les pourcentages des phases mitotiques des échantillons testés sont présentés dans le tableau 3.

La valeur maximale de l'IM a été enregistrée pour le contrôle négatif (21.28 $\pm$ 3.67). Une diminution dans l'IM a été observée pour tous les échantillons testés et ceci par rapport au contrôle négatif. Ces résultats montrent que les eaux usées ont un effet cytotoxique sur les racines d'*Allium cepa*.

Les valeurs de l'IM inférieures à celles du contrôle négatif indiquent que la croissance et le développement des racines d'*Allium cepa* sont affectés par les composées génotoxiques des échantillons testés tels que les produits pharmaceutiques, les déchets sanitaires, les

produits de soin personnel et les matières fécales humaines, de l'urine (**Liman et al., 2010 ; Kassa, 2021**).

Les valeurs du pourcentage des phases mitotiques du contrôle négatif étaient (44.03 ± 7.97) pour la prophase, (2.54 ± 1.92) pour l'anaphase, (2.87 ± 1.01) pour la métaphase et (53.25 ± 4.66) pour la télophase.

Une légère diminution du pourcentage de cellules en prophase a été observée pour les eaux brutes (32.98 ± 11.28) et (40.96 ± 5.25) et ceci pendant P1 et P2 respectivement. Cette diminution indique un effet mito-dépressif de quelques micropolluants organiques et inorganiques, pourrait interférer avec le développement normal de la mitose, ce qui empêche un certain nombre de cellules de pénétrer dans la prophase et en bloquant le cycle de la mitose durant l'interphase (**Yildiz et al., 2009 ; Tabet et al., 2015**).

Tableau 03: Effet des échantillons testés sur l'IM et les phases mitotiques.

traitement		NCC	IM	Phase mitotique(%) $\pm$ SD			
				Prophase	métaphase	anaphase	télophase
P1	E.B	5212	16.6 ± 3.78	32.98 ± 11.28	5.18 ± 4.52	7.23 ± 4.24	56.15 ± 11.35
	E.E	5070	16.2 ± 6.26	45.32 ± 12.7	6.19 ± 1.361	4.66 ± 1.54	41.05 ± 9.73
P2	E.B	5479	15.03 ± 1.73	40.96 ± 5.25	2.36 ± 0.78	3.40 ± 1.85	54.42 ± 14.70
	E.E	5202	19.04 ± 5.06	45.37 ± 6.26	0.68 ± 0.52	1.83 ± 3.45	53.40 ± 6.22
Contrôle Négatif		5305	21.28 ± 3.67	44.03 ± 7.97	2.54 ± 1.92	2.87 ± 1.01	53.25 ± 4.66
MMS		5194	6.81 ± 0.89	57.6 ± 5.65	13.84 ± 6.8	8.63 ± 3.56	19.9 ± 4.85

P :Prélèvement, NCC: Nombre de cellules comptées, IM : Indice mitotique, SD: Ecart type.

La figure 21 représente les différentes phases observées durant notre étude.

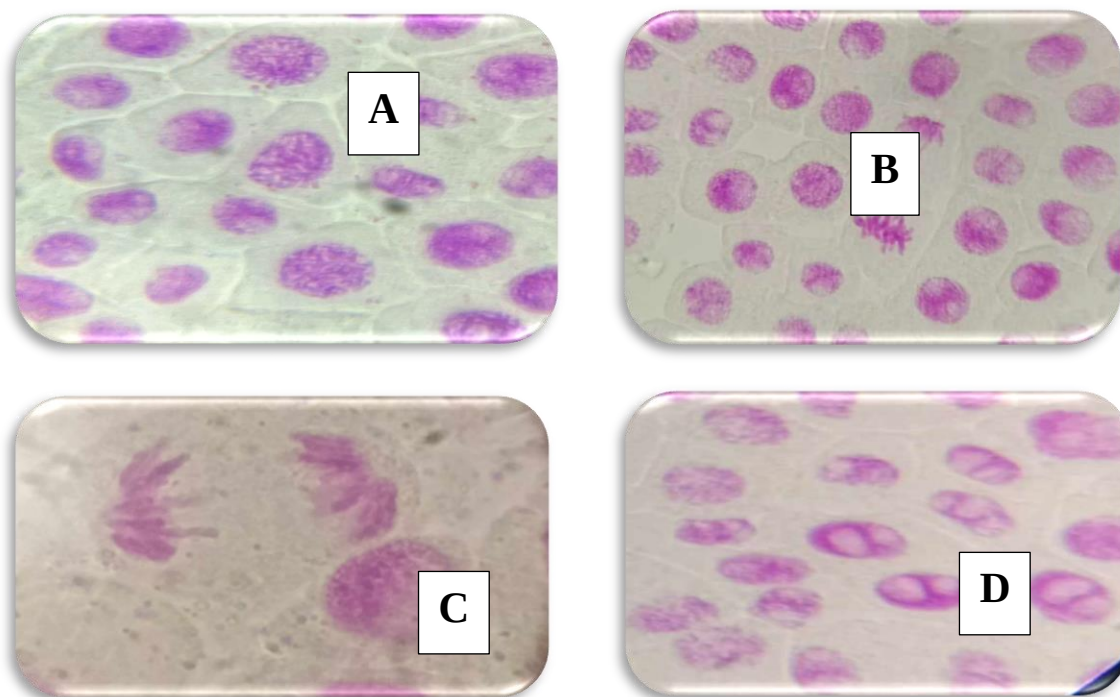


Figure 21: Phases mitotiques des racines d'*Allium cepa* ($\times 640$). (A) prophase, (B) métaphase, (C) anaphase, (D) télophase (2025).

2.3. Aberrations chromosomiques

Durant notre travail, le potentiel génotoxique des eaux usées a été évalué par l'apparition des AC dans les racines d'*Allium cepa*. Ces anomalies sont des modifications de la structure chromosomique ou du nombre total de chromosomes. Elles peuvent survenir de manière spontanée ou être induites par une exposition à des agents chimiques ou physiques (Cresencio et al., 2017).

Les résultats des pourcentages des AC détectées dans les racines d'*Allium cepa* sont présentés dans le tableau 4.

D'après les résultats obtenus le contrôle positif présente le pourcentage le plus élevé d'anomalies totales avec un taux de (7.38 ± 0.61) alors que le pourcentage le plus faible a été observé pour le contrôle négatif avec un taux de (0.90 ± 0.27) .

En comparaison avec le contrôle négatif, les échantillons d'eaux usées ont provoqué des AC dans les racines d'*Allium cepa* notamment pour les eaux brutes et ceci pendant les deux prélèvements.

Durant notre étude, l'anomalie la plus fréquente est la (PAT). Les autres AC: Pont chromosomique, chromosome vagabond et condensation des chromosomes sont également observées dans les racines traitées (**Fig.22**). L'observation de ces AC est due à la présence de certains micropolluants génotoxiques tels que les métaux lourds et les produits pharmaceutiques dans nos échantillons (**Borboa and De La Torre 1996; Monteiro et al. 2010; Foltete 2010**).

Les anomalies PAT et les chromosomes vagabonds pourraient se produire par dysfonctionnement sur la formation des microtubules, qui peut survenir en raison de l'inhibition de la polymérisation de la tubuline.

Les ponts chromosomiques peuvent se produire au cours de la translocation de l'inégalité d'échange de chromatides ou en raison de la présence du chromosome dicentrique (**Liman et al., 2010**).

La condensation anormale des chromosomes pourrait être attribuée à des liaisons subchromatidiques entre chromosomes (**Luo et al., 2004**).

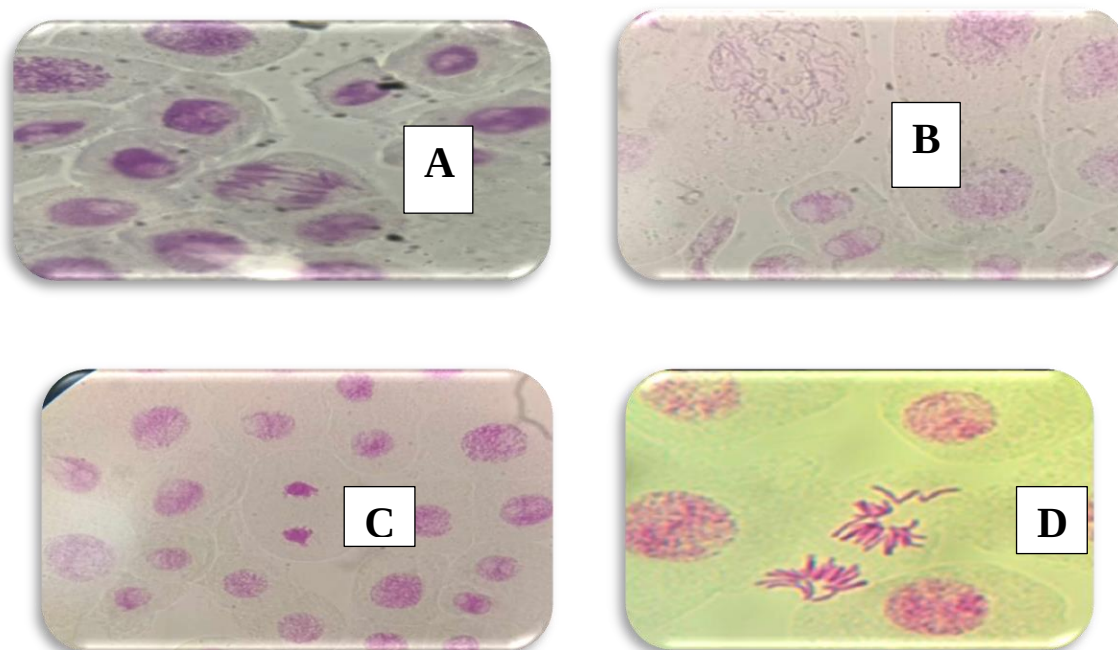
Les valeurs d'AC enregistrées pour les eaux épurées sont légèrement supérieures à celles du contrôle négatif, mais largement inférieures à celles du contrôle positif. Cela suggère une faible génotoxicité résiduelle, probablement due à des composés non complètement éliminés par le traitement.

Tableau 4: Pourcentages des AC détectées dans les racines d'*Allium cepa*.

traitement		NCC	AC détectées %				
			V%	C%	PAT%	PC %	AT%±SD
P1	E.E	586	0	0.17	0.85	00	1.02±0.40
	E.B	555	0.54	0.18	0.54	0.18	1.44±0.20
P2	E.B	569	0.17	0	0.52	0.7	1.92±0.33
	E.E	553	0	0	0.18	0.18	.099±0.22
Contrôle Négatif		548	0	0	0.72	0.36	0.90±0.27
MMS		586	0.7	0.84	4.21	1.63	7.38±0.61

NCC: Nombre de cellules comptées, SD: Ecart type, MMS: Méthyle méthane sulfonât,

V: chromosome vagabond, C: condensation de chromosomes, PAT: perturbation anaphase-télophase,
PC: pont chromosomique, AT: Anomalies totales.

**Figure 22:** AC détectées dans les racines d'*Allium cepa* ($\times 960$).

(A) pont chromosomique, (B) perturbation anaphase- télophase, (C) condensation de chromosome, (D) chromosome vagabond (2025).



Conclusion

Conclusion

Les ressources en eau sont constamment soumises à divers types de pollution d'origine domestique, industrielle, agricole ou urbaine. Pour limiter les impacts environnementaux, il est indispensable de traiter les eaux usées avant leur rejet dans le milieu naturel, notamment au moyen de procédés biologiques adaptés.

Dans cette étude, nous avons évalué la toxicité génétique des eaux usées brutes et traitées issues de la station d'épuration de la ville Guelma et ceci pendant (Février et Mars 2025). Le test d'*Allium cepa* a été employé pour mettre en évidence d'éventuelles altérations chromosomiques, certains paramètres physico-chimiques tels que: Le pH, la température, la CE, la salinité et la turbidité ont été également mesurés.

Les résultats obtenus montrent que le pH, la température, la CE et la salinité se situent dans les valeurs réglementaires. En revanche, la turbidité dépasse largement les seuils acceptables, ce qui indique une efficacité de traitement encore insuffisante

Sur le plan biologique, les résultats révèlent que les eaux usées brutes provoquent une inhibition de la croissance des racines et de la division cellulaire ainsi qu'une augmentation dans la fréquence des anomalies chromosomiques. La génotoxicité résiduelle observée après traitement est probablement liée à la présence de polluants persistants non éliminés par les procédés actuels.

Cette étude démontre l'utilité des tests biologiques pour un contrôle plus rigoureux de la qualité des eaux traitées et souligne la nécessité d'optimiser les méthodes de traitement afin de protéger l'environnement et la santé publique.



Références bibliographiques

- Abda A. (2015).** Traitement des eaux de surface et les risques génotoxiques des sous-produits de chloration. Thèse de doctorat, Université 8 mai 1945-Guelma, 134p.
- Aulicino E. A., Mastrantonio A., Orsini E., Bellucci C., Muscillo M., Larosa G. (1996).** Enteric viruses in a wastewater treatment plant in Rome. *Water, Air, and Soil Pollution* 91, Pp 327-334.
- Aweleh M.O., Bouh S.M. (2009).** Traitement biologique des eaux résiduaires urbaines à l'aide d'un réacteur conventionnel à boue activée. *Science et environnement* n°24, 29p.
- Azami Idrissi Y., Alemad A., Aboubaker., Daifi H., Elkharrim K., Belghyti D. (2015).** *International Journal of Innovation and Applied Studies*. ISSN 2028-9324 Vol, 11 No, Pp 556-566.
- Baumont S., Camard J. P., Lefranc A. (2009).** Réutilisation des eaux usées épurées: risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France, École nationale supérieure agronomique de Toulouse (ENSAT), 222p.
- Bedouh Y. (2014).** Évaluation de la toxicité des eaux usées traitées par la station d'épuration de Guelma et son impact sur l'oignon « *Allium cepa* ». Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba, 158p.
- Belaid N. (2010).** Evaluation des impacts de l'irrigation par les eaux usées traitées sur les plantes et les sols du périmètre irrigué d'El Hajeb-Sfax: salinisation, accumulation et phytoabsorption des éléments métalliques. Thèse de doctorat, Université de Limoges, 236p.
- Belgiorno V., Luigi R., Despo F., Claudio D. R., Giusy L., Nikolaou A., Vincenzo N., Sureyya M. (2007).** Review on endocrine disruptingemerging compounds in urban wastewater: occurrence and removal by photocatalysis and ultrasonic irradiation for wastewater reuse. *Desalination* 215, Pp 166–176.
- Borboa L., De La Torre C. (1996).** The genotoxicity of Zn (II) and Cd (II) in *Allium cepa* root meristematic cells. *New Phytologist*, 134, 481–486.
- Botta A. (2006).** De la génotoxicité à la cancérogenèse. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'environnement*, 67(4), Pp295–297.
- Campos C. (2008).** New perspectives on microbiological water control for wastewater reuse. *Desalination*. 218, Pp 34–42.
- Chamlal N. (2022).** Etude et évaluation génotoxique des viandes transformées. Thèse de doctorat, Université 08 mai 1945- Guelma, 201p.

Cheriot S. (2007). Rôle des produits de la réaction de Maillard dans l'inhibition de l'oxydation enzymatique des phénols et des lipides, thèse de doctorat, Université Paris, faculté des sciences de la vie, 204p.

Collins A. R. (2004). The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol*, 26, Pp249-261.

Cresencio C., Cabuga J.R., Julene J.Z., Abelada., Rene Rose Q. Apostado., Brent Joy H., Hernando., John Erick C., Lador., Owen Lloyd P., Obenza., Christian James R., Presilda., Honelyn C., Havana. (2017). *Allium cepa* test: An evaluation of genotoxicity. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 7(1), Pp 12-19.

Darolles C. (2010). Discrimination des effets chimio toxiques et radiotoxiques de l'uranium: définition de marqueurs biologiques pour l'évaluation des risques professionnels dans l'industrie du nucléaire. Thèse de doctorat, Université de la méditerranée, Aix- Marseille Facultés de médecine et de pharmacie, Spécialité: environnement et santé, 459p.

Djeddi H. (2006). Utilisation des eaux d'une station pour l'irrigation des essences forestières urbaines. Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister, Université Mentouri Constantine, 157p.

Eddabra R. (2011). Evaluation de la contamination bacteriologique des eaux usées des stations d'épuration du grand agadir: Isolement, Caracterisation moleculaire et antibioresistance des espèces du genre vibrio. Thèse de doctorat, Université Ibn Zohr-Agadir, 178p.

Foltete A. S. (2010). Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (*Fabaceae*) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine, Metz, 245p.

Fusconi A., Repetto O., Bona E., Massa N., Gallo C, Dumas-Gaudot E., Berta G. (2006). Effects of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in roots of *Pisum sativum* L. cv. Frisson seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, Volume 58, Issues 1–3, Pp 253-260.

Hachi T., Hachi M., Ech-chafay H., Elghabassi M., Ettayea H., Elkharrim K., Khadmaoui A., Belghyti D. (2016). Caractéristiques physicochimiques des eaux usées de la ville de M'rirt, (Maroc) [Physico-chemical characteristics of wastewater from the city of

M'rirt, (Morocco)]. International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324 Vol, 17 No, Pp791-803.

Hamoda M.F. (2004). Water strategies and potential of water reuse in the south Mediterranean countries. Desalination 165. Pp 31-41.

Jolibois B., Guerbet M., Goullé J. P. and Lacroix C. (2009). Effectiveness of two treatment plants to remove the genotoxicity of urban wastewater. Hospital Technology, 715, Pp63-68.

JORA. (2006). Valeurs limites des paramètres de rejets d'effluents liquides industriels. Journal officiel de la république Algérienne N° 26, 27p.

JORA. (2012). Spécification des eaux usées épurées utilisées à des fins d'irrigation. Journal officiel de la république Algérienne N°41. Pp 18-20.

Kassa B. A. (2021). cytotoxicity and genotoxicity evaluation of municipal wastewater discharged into the head of blue Nile river using the *Allium cepa* test. scientific african journal, 13, e00911, 11p.

Khengaoui K. (2017). Étude de l'effet de la salinité des eaux usées sur le processus de la filtration lente sur sables. Thèse de doctorat, Université kasdi Merbah Ouargla, 94p.

Latifi S. (2018). Étude de la vulnérabilité des nappes aquifères de la région de Guelma et évaluation du rôle des STEP dans la protection des eaux. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, 134p

Liman R., Akyl D., Eren Y. and Konuk M. (2010). Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and *Allium* test. Chemosphere, 80, Pp1056–1061.

Luo L. Z., Werner K. M., Gollin S. M. and Saunders W. S. (2004). Cigarette smoke induces anaphase bridges and genomic imbalances in normal cells. *Mutation Research*, 554, Pp375–385.

Malloum M.S.A.1., Theophile M., Tidjani A., Ndoumtamia G., Bichara L. (2015). Évaluation de la qualité physico-chimique des eaux d'adduction publique de la Société Tchadienne des Eaux à N'djamena au Tchad. Journal of Applied Biosciences, Pp8973 – 8980.

Maron D. M. and Ames B. N. (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Research, 113, Pp173-215.

Mateuca R., Lombaert N., Aka P. V., Decordier I., & Kirsch-Volders M. (2006). Chromosomal changes: induction, détection methods and applicability in human bio monitoring. Biochimie, 88(11), Pp 1515–1531.

Mattar M.Z., et al. (2014). Cytogenetic Impact of different types of polluted water on Vicia faba L. At Kafr El-Sheikh governorate, Egypt. J. Am. Sci, 10 (8), Pp 100–107.

Metahri M.S. (2012). Elimination simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées, par des procédés mixtes. Cas de la STEP et de la ville de tizi-ouzou. Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. P137.

Moche H. (2015). Utilisation du carbure de tungstène-cobalt (WC-Co) comme témoin positif génotoxique nano particulaire et étude de la génotoxicité de candidats nano vecteurs de médicaments. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, Ecole doctorale Biose, 221p.

Monteirono M. S., Rodriguez E., Loureiro J., Mann R. M., Soares A. M. V. M., Santos C. (2010). Flow cytometric assessment of Cd genotoxicity in three plants with different metal accumulation and detoxification capacities. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73, Pp1231–1237.

Mortelmans K., Zeiger E. (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. Mutation Research, 445, Pp29–60.

Ohe, T., Watanabe, T., Wakabayashi, K. (2004). Mutagens in surface waters. Mutation Research, 567, Pp109-149.

ONA (2011). Descriptif de fonctionnement et d'exploitation de la station d'épuration de Guelma, Ministère des Ressources en Eaux, Office National de l'Assainissement, Algérie, 64p.

Ortega E.M.I. (2004). Genotoxicity tests: Usefulness in occupational health Difficulties encountered in their application to the worker's medical Survey. Arch Public Health 62, Pp 71– 81.

Rodier J. (2005). L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8ème, édition, Dunod, Paris, 1535p.

Russo A. (2000). In vivo cytogenetics: mammalian germ cells. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 455, Pp167–189.

Schmid W., 1975. The Micronucleus Test, Mutation Research., 31, Pp9-15.

Schins R. P. F. (2002). Mechanisms of genotoxicity of particles and fibers. Inhalation toxicology, 14(1), Pp57-78.

Tabet M. (2015). Etude physico-chimique et microbiologique des eaux usées et évaluation du traitement d'épuration. Thèse de doctorat, Université 08 mai 1945- Guelma, 161p.

Tabet M., Abda A., Benouareth D.E., Liman R., Konuk M., Kallef M., Taher A. (2015). mutagenic and genotoxic effects of Guelma's urban wastewater, algeria. Environ Monit Assess, 13p.

Tarantini A. (2010). Modulation de la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges. Life Sciences, Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 175p.

Yıldız M., Hakkı C. I., Konuk M., Fatih F. A. and Terzi H. (2009). Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. Chemosphere, 75, 934–938.

**(1)[https://www.google.com/maps/search/Localisation+de+la+station+d'%C3%A9purati
on+de+la+ville+de+Guelma](https://www.google.com/maps/search/Localisation+de+la+station+d'%C3%A9puration+de+la+ville+de+Guelma)**. Date de consultation: 15.3.2025.



Annexes

Annexe 1

Matériel

- ✓ Microscope optique OPTIKA.
- ✓ Lames et lamelles.
- ✓ Eprouvettes.
- ✓ Béchers.
- ✓ Entonnoir.
- ✓ Pipettes.
- ✓ Les tubes à essai.
- ✓ Pissette.
- ✓ Compte-goutte.
- ✓ Balance de précision.
- ✓ Flacons.
- ✓ Agitateur..
- ✓ Papier filtre.
- ✓ Pince.
- ✓ Boîtes Pétri en verre.
- ✓ Papier whatman.
- ✓ Gobelets.

Préparation des solutions de test de génotoxicité (test d'*Allium cepa*)

Colorant feulgen

Fushine basique.....	0.25g
H ₂ O distillée.....	50ml
HCL.....	5ml
K ₂ S ₂ O ₅	0.5g

Préparation

- ❖ Dissoudre 0.25g de fushine dans 50 ml d'eau distillée bouillante.
- ❖ Attendre 10 minutes jusqu'à que le mélange atteigne une température de 50°C puis ajouter lentement 5 ml de solution d'HCL 1N, tout en agitant.
- ❖ Ajouter 0.5g de métabisulfite de potassium (K₂S₂O₅) et bien mélanger à l'aide d'un agitateur jusqu'à dissolution complète.
- ❖ Laisser reposer la solution pendant une nuit dans l'obscurité à 4°C
- ❖ Filtrer à l'obscurité à l'aide d'un papier filtre, puis conserver dans un flacon sombre.

Solution Carnoy

Acide acétique glacial (1v).....	10ml
Ethanol Pur (3v).....	30ml

Le carnoy est composé d'éthanol et d'acide acétique glacial (3v/1v) c'est-à-dire le volume d'éthanol est 3 fois d'acide acétique glacial.

Solution Ethanol 70%

Eau distillée.....	30ml
Ethanol 100%.....	70ml

Solution d'acide acétique glacial 45%

Acide acétique glacial.....	45ml
H ₂ O distillée.....	55ml

Solution HCL 1N

HCL.....	8.172 ml
H ₂ O distillée.....	100 ml

Annexe 2

Tableau 1 : Les valeurs limites des paramètres de rejet dans un milieu récepteur (JORA, 2006)

N°	PARAMETRES	UNITE	VALEURS LIMITES	TOLERANCES AUX VALEURS LIMITES ANCIENNES INSTALLATIONS
1	Température	°C	30	30
2	PH	-	6,5 - 8,5	6,5 - 8,5
3	MES	mg/l	35	40
4	Azote Kjeldahl	"	30	40
5	Phosphore total	"	10	15
6	DCO	"	120	130
7	DBO5	"	35	40
8	Aluminium	"	3	5
9	Substances toxiques bioaccumulables	"	0,005	0,01
10	Cyanures	"	0,1	0,15
11	Fluor et composés	"	15	20
12	Indice de phénols	"	0,3	0,5
13	Hydrocarbures totaux	"	10	15
14	Huiles et graisses	"	20	30
15	Cadmium	"	0,2	0,25
16	Cuivre total	"	0,5	1
17	Mercuré total	"	0,01	0,05
18	Plomb total	"	0,5	0,75
19	Chrome Total	"	0,5	0,75
20	Etain total	"	2	2,5
21	Manganèse	"	1	1,5
22	Nickel total	"	0,5	0,75
23	Zinc total	"	3	5
24	Fer	"	3	5
25	Composés organiques chlorés	"	5	7

**Tableau 2 : Les valeurs limites des paramètres des eaux usées utilisées à des fins d'irrigation.
(JORA, 2012)**

PARAMETRES		UNITÉ	CONCENTRATION MAXIMALE ADMISSIBLE
Physiques	pH	—	$6.5 \leq \text{pH} \leq 8.5$
	MES	mg/l	30
	CE	ds/m	3
	Infiltration le SAR = o - 3 CE	ds/m	0.2
	3 - 6		0.3
	6 - 12		0.5
	12 - 20		1.3
	20 - 40		3
Chimiques	DBO5	mg/l	30
	DCO	mg/l	90
	CHLORURE (Cl)	meq/l	10
	AZOTE (NO ₃ - N)	mg/l	30
	Bicarbonate (HCO ₃)	meq/l	8.5
Eléments toxiques (*)	Aluminium	mg/l	20.0
	Arsenic	mg/l	2.0
	Béryllium	mg/l	0.5
	Bore	mg/l	2.0
	Cadmium	mg/l	0.05
	Chrome	mg/l	1.0
	Cobalt	mg/l	5.0
	Cuivre	mg/l	5.0
	Cyanures	mg/l	0.5
	Fluor	mg/l	15.0
	Fer	mg/l	20.0
	Phénols	mg/l	0.002
	Plomb	mg/l	10.0
	Lithium	mg/l	2.5
	Manganèse	mg/l	10.0
	Mercure	mg/l	0.01
	Molybdène	mg/l	0.05
	Nickel	mg/l	2.0
	Sélénium	mg/l	0.02
	Vanadium	mg/l	1.0
	Zinc	mg/l	10.0