

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث 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: Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option: microbiologie appliquée

Département: Ecologie et génie de l'environnement.

Thème

La Bioremédiation des métaux cas de cuivre par des souches fongiques isolées et identifiées à partir du lac Oubeira (Nord-est de l'Algérie)

Présenté par :

Aggoun Amira

Trahnia Amel

Devant le jury :

Mme. AYAD H	(Maitre de conférences B)	Présidente	Université de Guelma
Mme. TORCHE E	(Maitre de conférences B)	Examinatrice	Université de Guelma
Mme. BEDIQUI S	(Maitre de conférences B)	Encadreur	Université de Guelma

Juillet 2019

Remerciements

Nous remercions le Dieu tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il ma donné durant tous ces années d'étude.

Nous remercions **Mme AYAD. H**, d'avoir voulu accepter de faire partie de présider le jury de soutenance et pour sa compétence et gentillesse.

Nous tenons à remercier **Mme TORCHE. A**, pour avoir exprimé leur entière disponibilité à participer à ce jury et examiner ce mémoire.

Nos sincères remerciements et notre profonde reconnaissance vont à **Mme Bedioui Soraya**, pour nous avoir fait l'honneur de diriger ce mémoire, qu'il nous soit permis de lui exprimer notre sentiments d'estime et de considération pour ses précieux conseils tout au long de notre travail.

Nos sincères remerciements vont également à toutes les équipes de laboratoire – bibliothèque et administration.

Nous remercions également les enseignants de la faculté de science de la nature et de la vie pour tout le savoir qu'ils ont su nous transmettre durant ces années.

A tous, Merci.

Amira & Amel

DÉDICACE

Je dédie ce travail avec vif plaisir à ceux qui sont les plus proches à mon cœur, qui m'ont toujours aimé et qui ont fait de toute leurs force pour que je sois toujours heureuse, mes très chers parents, qui sans eux je ne serai rien, mon très cher père **AMAR** pour tout ce qu'il a fait pour moi, pour leur soutien moral et matériel, leur encouragement, pour ça patience.

Ma très chère maman **HABIBA** pour son soutien moral, pour l'amour qu'il m'a porté et pour ses sacrifices,

À mon très cher mari **HALIM DJERIBI** pour son soutien et son amour

À mon adorable frère ; **MIDOU**, merci infiniment pour ce que vous avez fait pour moi

À mes très chères sœurs **MERIEM et WISSEME**,

À mes deuxièmes parents papa **AMAR** et maman **DJAHIDA**,

À toute ma grande famille **AGGOUN et DJERIBI**,

À tous mes amis en particulier ma binôme **Amel** et toute sa famille : **Trahnia**, et aussi ma très chère **MISS AWATEF**,

Ma très belle patrie l'Algérie, et tous ceux qui m'ont soutenue de près ou de loin.

AMJRA

Dédicaces

Je dédie ce travail avec vif plaisir à ceux qui sont les plus proches à mon cœur, qui m'ont toujours aimé et qui ont fait de toute leurs force pour que je sois toujours heureuse, mes très chers parents, qui sans eux je ne serai rien, mon très cher père **Zouheir** pour tout ce qu'il a fait pour moi, pour leur soutien moral et matériel, leur encouragement, pour ça patience.

Ma très chère maman **Nadia** pour son soutien moral, pour l'amour qu'il m'a porté et pour ses sacrifices,

À mon très cher mari **Mohamed Amine** pour son soutien et son amour

À mon adorable frère ; **Oussama**, merci infiniment pour ce que vous avez fait pour moi, À mon petit frère **Ammar**

Idriss, À ma très chère sœur **Nour El Houda**,

À mes deuxièmes parents baba **Slimen** et mama **Malika**,

À toute ma grande famille, mes deux grands mère, mon

grand père, mes oncles et leurs femmes ; mes cousins et

cousines, A tous mes amis en particulier ma binôme **Amira** et toute

sa famille : **Aggoun**, et aussi mon amie proche **Amira Nasri**,

Ma très belle patrie l'Algérie,

et tous ceux qui m'ont soutenue de près ou de loin.

Amel

Liste des figures

N° de figure	Titres	N° de page
01	localisation du lac Oubeira dans le parc National d'El kala.	04
02	Variation des températures moyennes mensuelles.	07
03	Variation des précipitations moyennes mensuelles.	07
04	Classification périodique des éléments.	12
05	Les différentes classes des souches fongiques.	18
06	Revivification et Identification des souches fongiques.	23-24
07	Mode opératoire d'ensemencement des souches pour déterminer la biorémédiation vis-à-vis le cuivre.	27-28
08	Diamètre des zones de développement des différents jours en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Czapek simple.	41
09	Diamètre des zones de développement des différents milieux en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Czapek simple.	42
10	Diamètre des zones de développement des différents jours en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Sabouraud Chloramphénicol.	45
11	Diamètre des zones de développement des différents milieux en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Sabouraud Chloramphénicol.	46
12	Diamètre des zones de développement des différents jours en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Sabouraud chloramphénicol.	49
13	Diamètre des zones de développement des différents milieux en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Sabouraud chloramphénicol.	49
14	Diamètre des zones de développement des différents jours en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du TGEA.	52
15	Diamètre des zones de développement des différents milieux en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du TGEA.	52

Liste des tableaux

N° de tableau	Titres	N° de page
01	La topographie du lac Oubeira.	04
02	la détermination géologique du lac.	05
03	hydrogéologie du lac.	05
04	l'alimentation saisonnière du lac Oubeira par les oueds.	06
05	les principaux groupes du faune du lac Oubeira.	08
06	les différentes espèces végétaives du lac Oubeira.	09
07	L'étude de la distribution saisonnière de la densité de chaque classe d'algue.	09
08	les caractéristiques physico-chimiques du cuivre.	14
09	les effets du cuivre sur la santé.	16
10, 11, 12, 13	Identification macro et microscopique des souches isolées	30-39
14	Matrice de corrélation pour une souche isolée d'un milieu Czapek simple	40
15	Effet du cuivre selon les mesures du diamètre élevé et faible sur la souche isolée à partir du milieu Czapek simple.	42
16	Matrice de corrélation pour une souche isolée d'un milieu Sabouraud Chloramphénicol.	44
17	Effet du cuivre selon les mesures du diamètre élevé et faible sur la souche isolée à partir du milieu Sabouraud Chloramphénicol	47
18	Matrice de corrélation pour une souche isolée d'un milieu Sabouraud chloramphénicol	48
19	Effet du cuivre selon les mesures du diamètre élevé et faible sur la souche isolée à partir du milieu Sabouraud Chloramphénicol.	50
20	Matrice de corrélation pour une souche isolée d'un milieu TGEA.	51
21	Effet du cuivre selon les mesures du diamètre élevé et faible sur la souche isolée à partir du milieu TGEA.	53

Liste d'abréviations

- A : nombre atomique
- AFLPA : Amplified Fragment Length Polymorphism
- CI : inhalation chronique
- Cu : cuivre
- Cz. S : Czapek simple
- Cz. C : Czapek concentré
- DL : dose létale
- ENA : anomalies nucléaires des érythrocytes
- IC : indice de contamination
- mm/ans : millimètre par ans
- MES : matière en suspension
- MN : micronoyau
- OMS : organisation mondiale de la santé
- PCR : Polymérase Chain Réaction
- pH : potentiel d'hydrogène
- RAPD : la Random Amplified Polymorphic
- RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphisms
- Sab. Chl : Sabouraud Chloramphénicol
- TGEA : tryptone-glucose-extrait de levure-agar
- Z : nombre électronique

Glossaire

Anamorphe : Un organisme anamorphe se dit de la forme asexuée d'un champignon. Les champignons dont on ne connaît que la phase anamorphe sont classés dans les adélomycètes, dans l'attente de découvrir leur hypothétique forme sexuée.

Argile marneuse : La marne est une roche sédimentaire, mélange de calcite (CaCO_3) et d'argile dans des proportions à peu près équivalentes variant de 35 % à 65 %. Les alternances marne-calcaire sont très fréquentes dans les séries sédimentaires et portent le nom de formation marno-calcaire.

Bioaccumulation : Est un processus par lequel certaines substances endogènes ou exogènes, présentes en faible quantité, voient leur concentration augmenter dans un organe, un organisme, une chaîne alimentaire (ou trophique), un écosystème.

Biorémediation : Est une technique consistant à augmenter la biodégradation ou la biotransformation, en inoculant des micro-organismes spécifiques (bioaugmentation) ou en stimulant l'activité de populations microbiennes indigènes, par biostimulation, par apport de nutriments et par ajustement des conditions de milieu (potentiel d'oxydoréduction, humidité).

Biosorption : Est un processus physico-chimique naturel et passif (c'est-à-dire qu'il ne requiert pas d'énergie), agissant chez certaines espèces de bactéries, champignons, plantes ou animaux (dans un organe particulier souvent), leur permettant de bioconcentrer passivement certains métaux, radionucléides, minéraux ou molécules organiques toxiques.

Caryogamie : Fusion des noyaux mâle et femelle à la suite de la fécondation, lorsque cette fusion est retardée par rapport à celle des gamètes, ou cytogamie. (C'est le cas chez les champignons supérieurs ; dans les autres groupes, la fusion des noyaux est plus souvent appelée amphimixie.)

Conidiophore : Partie du mycélium des champignons qui porte des conidies.

Dictyospore : Spore murale avec cloisons longitudinales et transversales.

Didymospore : Spore bicellulaire.

Téléomorphe : Une période téléomorphe se dit de la phase sexuée des champignons.

Xérique : qualifié les milieux caractérisés par une aridité persistante et la végétation adaptée à la sécheresse.

Schizophrénique : la schizophrénie est une maladie psychiatrique chronique (perte le contact avec la réalité)

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviations

Glossaire

Introduction

Chapitre I : Description de la zone d'étude

1 Description de la zone d'étude	3
2 Localisation et Délimitation du lac	3
2-1 Conditions du milieu physique	4
2-1-1 Topographie	4
2-1-2 Géologie	5
2-1-3 Hydrogéologie	5
2-1-4 Hydrographie	6
2-1-5 Climatologie	6
2-1-5-1 Données thermique	6
2-1-5-2 Données pluviométrique	7
2-1-6 La biodiversité	8
2-1-6-1 La faune	8
2-1-6-2 La végétation	8
2-1-6-3 Les microorganismes	9

3 Situation socio-économique	9
4 Les problèmes du lac Oubeira	10

Chapitre II : Contamination des eaux par les métaux lourds

1 Généralités sur les métaux lourds	12
2 Définition	12
3 Les sources des métaux lourds	13
3-1 Sources naturelles	13
3-2 Sources anthropiques	13
4 Le cuivre	14
4-1 Caractéristiques	14
4-2 La toxicité	14
4-2-1 La toxicité aigüe	14
4-2-2 La toxicité chronique	15
4-3 La biorémediation du cuivre	15
4-4 Les effets sanitaires	16
6 Impact des métaux lourds (cuivre) sur l'environnement	16
7 La pollution métallique	17

Chapitre III : les critères d'Identification des souches fongiques

1 Définition d'un champignon	18
2 Classification fongique	18
3 Le thalle végétatif	19
4 La reproduction chez les champignons	19
5 Les champignons filamenteux	19

5-1 Identification des champignons filamenteux	19
5-1-1 Analyse morphologiques	19
5-1-1-1 Macroscopiques	19
5-1-1-2 Microscopique	20
5-2 Analyse moléculaire	21

Chapitre IV : Matériel et méthodes

1 La revivification des souches	22
1-1 Milieux de cultures utilisés	22
1-2 Stérilisation des milieux	22
1-3 Coulage des boites	22
1-4 Ensemencement et incubation	22
1-5 Lecture	23
1-6 Identification macroscopique	25
1-7 Observation microscopique	25
1-7-1 Examen à l'état frais	25
1-7-2 Examen après coloration	25
2 L'effet des métaux lourds sur les champignons	26
2-1 Souches fongiques	26
2-2 Etude de L'effet des métaux lourds sur les champignons	26
2-3 Mode opératoire	26
2-4 Etude statistique	27

Chapitre V : Résultats et Discussion

1 Identification fongique	30
2 Résultats de la biorémédiation	40

2-1 Le cuivre	40
2-1-1 La culture d'une souche isolée à partir d'un milieu Czapek simple	40
2-1-2 La culture d'une souche isolée à partir d'un milieu Sabouraud chloramphénicol	43
2-1-3 La culture d'une souche isolée à partir d'un milieu Sabouraud chloramphénicol.....	47
2-1-3 La culture d'une souche isolée à partir d'un milieu TGEA.....	50

Conclusion

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

INTRODUCTION

Introduction

L'eau est un élément vital et indispensable à la vie. Elle couvre 70% de la planète. Son importance pour l'économie ne cesse de croître. Sa demande et son approvisionnement deviennent de plus en plus difficiles à acquérir. Elle est nécessaire à la santé, l'agriculture, l'industrie, le tourisme, les loisirs et la navigation (24).

A l'échelle planétaire, l'eau douce est une ressource rare cas du lac Oubeira précieuse et menacée. En effet, les hommes consomment l'eau et génèrent diverse polluants dans le cadre de leurs activités industrielles, artisanales, agricoles, domestiques et urbaines. Lorsque ces polluants sont rejetées sans traitement préalable dans ces eaux, elles altèrent la qualité du lacs et nappes souterraines provoquant de graves nuisances.

Lac Oubeira est une zone humide protégée par la convention de RAMSAR car il abrite une faune et flore très diversifiées malheureusement cette dernière est touché par une double pollution une organique et autre oxydante par la présence des métaux lourds cas du cuivre (6).

La contamination de ces eaux contribue à une menace réelle pour notre environnement après l'accumulation dans la chaîne trophique en provoquant des maladies très graves tel que les maladies transmissibles hydriques et autre maladie cancérogène.

Dans ce cas la décontamination du lac Oubeira est devenue une responsabilité majeure par des méthodes purement biologiques en comparant aux d'autres classiques coûteuses, en utilisant les biosorbants (souche fongique) c'est pour cela nous sommes intéressés à ces souches.

L'objectif de notre travail est la revivification des souches fongiques à partir de ces eaux et tester leur tolérance vis-à-vis de cuivre en commençant par des concentrations faibles.

Ce travail vise à étudier deux parties théoriques contenant 3 chapitres :

Chapitre I : Généralité et description de la zone d'étude.

Chapitre II : contamination des eaux par les métaux lourds.

Chapitre III : les critères d'identification des souches fongiques.

Et autre expérimentale s'exprimée par 2 chapitre :

Chapitre IV : Matériel et méthodes.

Chapitre V : Résultats et discussion

Et terminera par une conclusion.

CHAPITRE I

Le Parc national d'El Kala est une zone humide protégée par la convention du RAMSAR contient plusieurs lacs tel que Tonga, Mellah, et Oubeira, cette dernière se caractérise par une faune et flore très diversifiées, exemple : faune (Canard colvert, Lezard, crapaud vert...), flore (Typha latifolia, typha angustifolia...)

1- Description de la zone d'étude

Lac Oubeira fait partie du complexe National d'El-Kala situé dans la partie extrême du Nord-Est d'Algérie, s'étend sur une superficie de 2200 ha. Le parc contient plusieurs écosystèmes qui sont variées, permettent à eux un classement mondialement protégés, renferment des espèces endémiques vont être dispersées (14).

2- Localisation et Délimitation du lac

Le lac Oubeira est un plan d'eau douce de moins de 4 m de profondeur, situé à 5 km au sud-ouest d'El-Kala et 54 km à l'est d'Annaba (5).

Il est distant de 2,3 km du lac Mellah qui se trouve au nord-ouest. Son bassin versant à une surface de 125 Km² dont 40 Km² en terrain plat et 85 Km² en collines de basses altitudes (5).

Entouré par un cercle de collines de nature argilo-gréseuses, formant un bassin versant de 9800 ha. Il est ainsi dominé au Nord-Ouest par Djer El Ousaa (132 m), au Nord-Est par Kef Bou Merchène (164m) dont la pente s'achève au niveau de la rive Ouest, les collines de la forêt de Brabtia constituent une limite commune entre les bassins versants de l'Oubeira et du Mellah (8).

Au Sud-ouest du lac s'élève la forêt de l'Oubeira jusqu'à 188m. La rive Est du lac est longée par la route national 44, à l'Est de la quelle culminent les hauteurs de la Calle et d'El Frine à 175m environ (3).

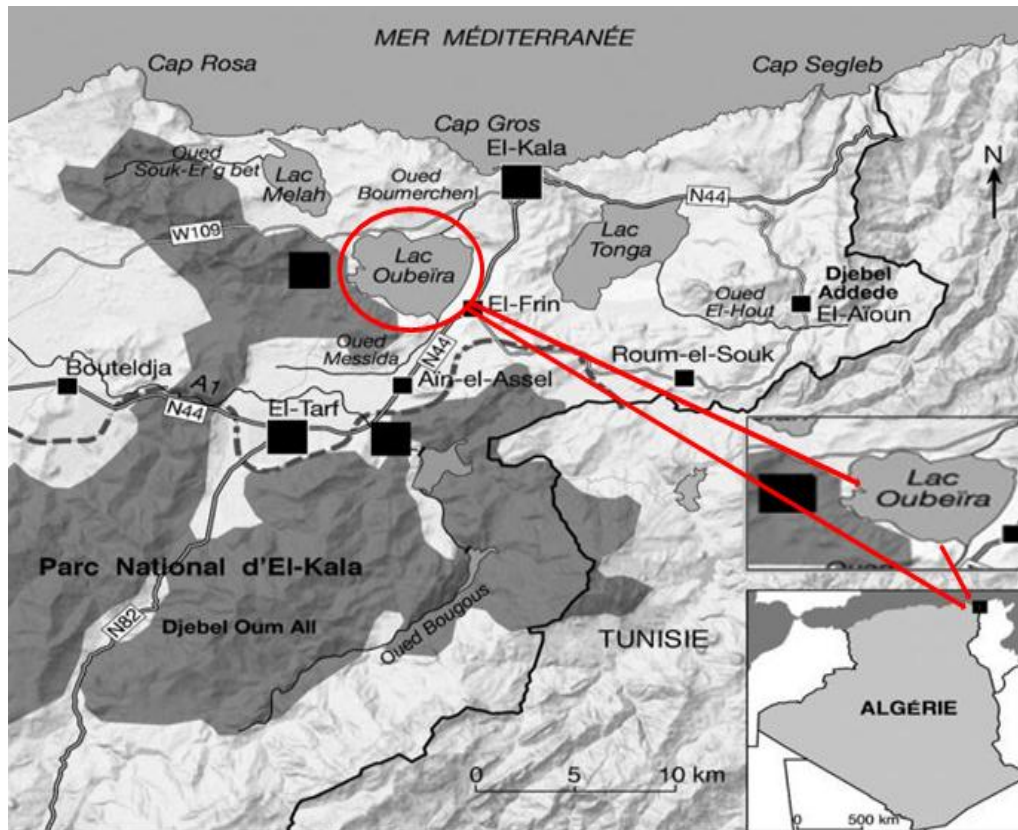


Figure N°1 : localisation du lac Oubeira dans le parc National d'El kala [4].

2-1 Conditions du milieu physique

2-1-1 Topographie

Les caractéristiques sont indiquées dans le tableau suivant.

Tableau N°1 : La topographie du lac Oubeira (8).

Les collines	les versants	les dunes	les terrasses
S'étalent au Nord, à l'Est et à l'Ouest du parc. Cet ensemble caractérise un relief dont l'altitude ne dépasse pas les 600 m.	Occupent toute la partie Sud et Nord-Ouest. Les versants sont généralement de forme convexe, présentent des pentes assez fortes.	Occupent la majorité de la partie Nord-Est du bassin versant. Des pentes moyennes (5 à 10%).	Ce sont des étendues planes à dénivellation faible et dont la pente est inférieure à 5%.

2-1-2 Géologie

Ces caractéristiques sont indiquées dans le tableau suivant.

Tableau N°2 : la détermination géologique du lac (8).

Les alluvions lacustres	Formées d'argiles dont l'imperméabilité est liée aux argiles de Numidie.
Les alluvions limoneuses	Au fond des vallées de pléistocène, formées de sables et limons.
Les grés à hélices	La désagrégation a donné les dunes.
Les formations du Pontien	Présentent deux faciès des argiles sableuses grises, jaunes ou rouges, et des argiles marneuses, salifères et argiles rouges gypseuses.
Les grés de Numidie	Quartzeux, souvent blanchâtres parfois assez friables, transgressifs sur les argiles de Numidie et formant des reliefs abrupts.
Les marnes argilo-chisteuses	De couleurs variées avec intercalations de petits bancs de grés quartziteux développés surtout sur les pentes de vallées et groupées sous le nom d'argiles de Numidie.
Les argiles	Grés et calcaires noirs à numinulites de l'Eocène moyen.

2-1-3 Hydrogéologie

Les caractéristiques sont indiquées dans le tableau suivant.

Tableau N°3 : hydrogéologie du lac (8)

formations perméables	formations peu perméables
<p>Les Plaines : les débits ne dépassant pas les 10 l/s, pour les épaisseurs d'aquifères de plus les quarante mètres.</p> <p>les aquifères : présentent une perméabilité modérée dont les valeurs sont de l'ordre de 10^{-5} m/s, ceci est dû à la présence d'éléments fins dans les couches de l'aquifère.</p>	<p>Les grés, les argiles numidiennes, ainsi que les argiles et les limons. Leur perméabilité est faible, elle varie entre :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 10^{-6} l/s dans les argiles et les grés, - 10^{-5} à 10^{-4} l/s dans les limons et les argiles alluvionnaires.

2-1-4 Hydrographie

Le lac Oubeira est alimenté par des cours d'eau importants :

- L'oued Demt Rihan au Nord
- L'oued Bou Merchène au Nord-Est
- L'oued Dey El Garaa à l'Est
- L'oued Messida au Sud (8).

Tableau N°4 : l'alimentation saisonnière du lac Oubeira par les oueds (8).

Hiver	Eté
A l'occasion des fortes précipitations, les eaux de l'oued El Kébir parviennent au lac principalement par l'oued Messida.	Le niveau de l'oued El Kébir est plus bas, le système hydrologique fonctionne en sens inverse. L'oued Messida ayant cette singularité de couler dans les deux sens selon la crue ou l'étiage.

2-1-5 Climatologie

Les données fragmentaires sur la climatologie de la région ne permettent malheureusement pas de dresser un tableau détaillé des conditions climatiques qui y règnent. En effet au niveau du bassin versant du Lac Oubeira où les reliefs jouent selon leur position, le rôle d'ombre ou d'aimant pluviométrique, où les zones humides en tamponnant localement l'atmosphère, réduisent le caractère xérique de la période estivale et où généralement, la plus petite variation du facteur limitant que constitue l'humidité se répercute immédiatement sur la végétation (22).

2-1-5-1 Données thermiques

Le paramètre température est fonction de l'altitude, de la distance de la mer et de la position topographique. À mesure que l'on s'éloigne de la mer, les températures annuelles moyennes s'abaissent. On peut donc diviser l'année en un semestre froid et un semestre chaud; dans cette zone littorale les températures descendent rarement à 0°C, la variation de l'allure de

la courbe prend cependant la forme d'un (U) ou les minimums sont enregistrés pendant les mois de Décembre et de Janvier, les maximums sont alors notés pendant les mois de Juillet et d'Août (11).

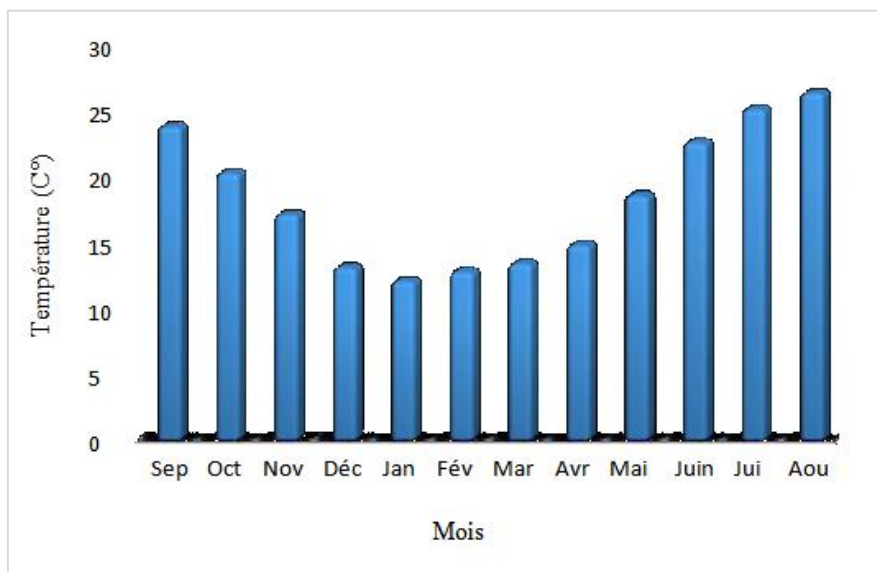


Figure N°2 : Variation des températures moyennes mensuelles [(Station de Bouteldja, 1980-2005) (14)].

2-1-5-2 Données pluviométriques

La précipitation moyenne mensuelle permet d'avoir une idée sur la variation mensuelle et pluriannuelle des précipitations, elle est le calcul de la moyenne arithmétique des hauteurs des précipitations du mois considéré sur une période d'années (14).

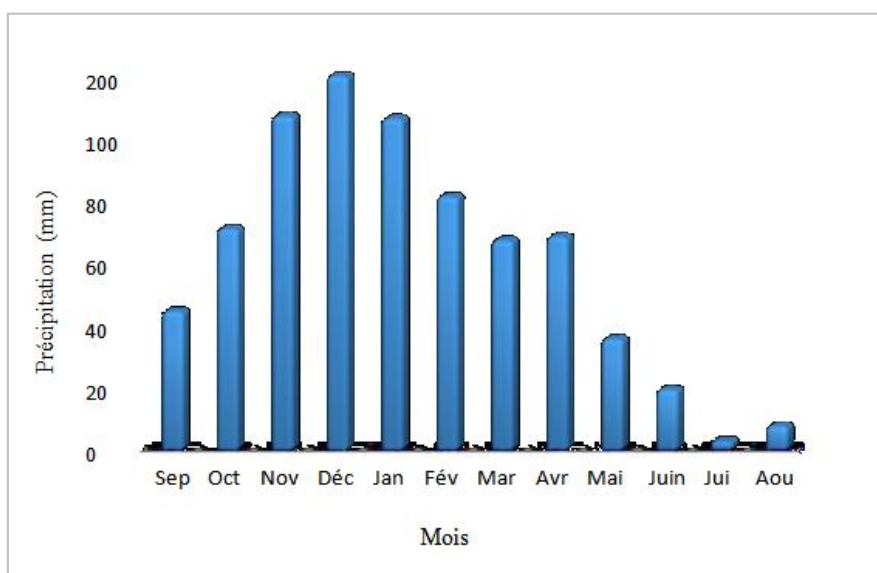


Figure N°3 : Variation des précipitations moyennes mensuelles [(Station de Bouteldja, 1980-2005) (14)].

2-1-6 La biodiversité

2-1-6-1 La faune

Tableau N°5 : les principaux groupes des faunes du lac Oubeira (7).

	Principaux groupes	Exemple de genres
Faune supérieure	Poissons autochtones	<i>Barbeau, Anguille, Mulet.</i>
	Poissons allochtones	<i>carpe commune, carpe argentée, carpe grande-bouche.</i>
	Oiseaux hivernants.	<i>Foulque, canard, Fuligule, Erismature, Oie cendrée</i>
	Oiseaux nicheurs	<i>Busard des roseaux, Heron, Butor étolé, Canard colvert, Role d'eau, Poule d'eau</i>
	Mammifères	<i>Musaraigne musette, Rat rayé de barbarie.</i>
	Amphibiens	<i>crapaud vert, Crapaud de mauritanie, Grenouille rieuse.</i>
	Reptiles	<i>Tortue lepreuse, Tortue mauresque, Lezard.</i>
Faune inférieure	Odonates (libellules)	<i>Calopteryx, sympecma, Lestes, Ishnura, Anax, Orthetrum, Diplacodes, Urothemis.</i>
	Coléoptères.	<i>Carabus, Leitus, Liagona, Lcarites, Brachinus.</i>
	Diptères (syrphidés)	Chenilles, pollinisateurs, saprophages, phytophages.
	Lépidoptères	Papillons.

2-1-6-2 La végétation

Constitue une source nutritionnelle et un élément important dans la protection du lac et le maintien de son équilibre biologique, et le tableau suivant indique les différentes espèces végétatives contenant dans le lac Oubeira (7).

Tableau N°6 : les différentes espèces végétaives du lac Oubeira (7).

Scirpe	<i>scirpus maritimus</i>
Roseaux	<i>Phragmites australis</i>
Massettes	<i>Typha latifolia</i> ; <i>Typha angustifolia</i>
Nénuphar (espèce rare)	<i>Numpha alba</i>
Châtaigne d'eau	<i>Paspalum paspalodes</i> <i>Myriophytum spicatum</i> <i>Ceratophyllum demersum</i>

2-1-6-3 Les microorganismes

Tableau N°7 : L'étude de la distribution saisonnière de la densité de chaque classe d'algue (28).

les Diatomées	enregistrent les densités les plus élevées au printemps et en automne ou ils représentent respectivement 33 et 27% de la densité moyenne globale enregistrée par cette classe. Leur densité reste relativement assez élevée en été, mais baisse beaucoup en hiver.
Les Dinoflagellés	en été et en automne que le plus gros des effectifs de Dinoflagellés est relevée 55% et 20% respectivement ; en période hivernale et printanière leurs taux atteignent respectivement 19 et 9%.
Les Cyanobactéries	sont fortement présentes en été et au printemps ou ils représentent respectivement 41 et 30% (soit $\frac{3}{4}$ de la densité moyenne globale enregistrée par cette classe). Des proportions presque égales sont relevées en automne et en hiver

3 Situation socio-économique

Lac Oubeira est d'un intérêt social et culturel de par la production halieutique, l'exploitation de l'eau pour l'agriculture autour du lac (il s'agit surtout de cultures spéculatives telle que la culture d'arachides consommatrice d'eau) la présence d'un site archéologique (Mégalithique) au Sud-est du lac et l'éducation et la recherche scientifique (aspect paysager ouvert et présence de deux postes d'observation ornithologique) (26).

Au niveau du lac, la pêche artisanale se fait au filet trémail mais ne concernait que la capture de barbeaux (*Barbus callensis*), de mugilidés (*Mugil cephalus*, *Liza ramada*) et rarement en période hivernale de clupeidés (*Alosa fallax fallax*). L'anguille (*Anguilla anguilla*) est capturée au moyen de nasses (20).

4 Les problèmes du lac Oubeira

Un problème du lac Oubeira est une introduction d'une carpe exotique, dont six millions ont été lâchées en 1986, mais durant l'été 1990, le lac s'est asséché complètement, du fait des pompages et de la sécheresse, ce qui a eu pour effet de tuer les intruses. Mais cette disparition de l'eau a eu un impact sévère sur la végétation aquatique. Le lac subit aussi le développement urbain, la disparition de ses roselières pour le pâturage (13).

La construction du barrage de la Mexenna sur l'Oued El Kebir pour fournir de l'eau à la ville d'El Kala pourrait avoir des conséquences fâcheuses sur les zones humides de la région. Le lac subit aussi une pollution par les eaux usées des villages alentours [3].

Cependant, elle a reconnu une prolifération massive des cyanobactéries toxiques lors de l'année 2005 dont la concentration en microcystine était équivalente à 1,12 mg/l. Cet incident était accompagné avec la mort de 12 individus de tortues appartenant à deux espèces, *Mauremys leprosa*, (espèce omnivore) et *Emys orbicularis* (espèce carnivore), qui ont accumulé respectivement 87 % ; 97,7% de la microcystine au niveau du foie, 1,95% ; 6,77% dans les viscères et 0,35% ; 6,23% dans la chair (22).

Par ailleurs, la dégradation des argiles, des marnes et des grès ferrugineux sont à l'origine des teneurs anormales de fer, d'aluminium, de manganèse et de fluor présents dans l'eau. Ces éléments rendent cette eau impropre à la consommation humaine et si elle est distribuée, elle serait à l'origine de pathologie grave (2).

Elle reçoit des rejets d'eaux usées de petites localités et subit en saison sèche des prélèvements destinés à l'irrigation. Ces actions ont pour l'instant peu d'effets sur les caractéristiques physico-chimiques des eaux (température, conductivité, oxygène dissous...) (9).

Les apports de la saison sèche des affluents sont habituellement faibles et incapables d'apporter d'intenses perturbations dans la masse aquatique. En raison de sa situation en zone nord-africaine, soumise au climat méditerranéen, la région est marquée par de très fortes pertes par évaporation et par une érosion importante accentuée par la déforestation du bassin versant (9).

Le lac endoréique d'Oubeira doit sa pérennité à un équilibre subtil entre une évaporation d'environ 1500 mm/an et une alimentation pluviale d'environ 850 mm/an .Le déséquilibre entre les apports et l'évaporation, à cette époque de l'année, suite aux prélèvements anthropiques, à la forte insolation et aux températures élevées engendre chaque année un rétrécissement temporaire du lac (2).

CHAPITRE II

Lac Oubeira est une zone protégée par la convention du RAMSAR. Malheureusement elle est touchée par une double pollution organique et autre oxydante par la présence des métaux lourds cas du cuivre (Cu).

1 Généralités sur les métaux lourds

Les métaux lourds ou les éléments en traces métalliques sont des composants naturels on les rencontre généralement sous forme de minerais, associée entre eux et avec d’autres nombreux éléments (oxygène et soufre en particulier) (6).

Ils sont aussi naturellement présents dans les roches drainées par les eaux de surface et les nappes souterraines. Généralement les métaux se trouvent à de faibles concentrations, de l’ordre de ng ou µg par litre (6).

2 Définition

Les métaux lourds sont des éléments métalliques naturels, de densité supérieure à 5 g/cm³ et tout métal ayant un numéro atomique élevé, sont supérieurs à celui du sodium (Z=11), (A=23), se présente dans tous les compartiments de l’environnement, mais en général en quantités très faibles sous forme de traces (1).

Bloc s												Bloc p									
H		<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #cccccc; margin-right: 5px;"></div> Métaux lourds de densité > 5 </div>																			He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne				
Na	Mg	Bloc d										Al	Si	P	S	Cl	Ar				
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr				
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe				
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn				
Fr	Ra	Ac	Bloc f																		
Lanthanides		Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu						
Transuraniens		Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Cf	Bk	Es	Fm	Md	No	Lr						

Figure N°4 : Classification périodique des éléments (1).

3 Les sources des métaux lourds

On distingue 2 types de sources pour tous les métaux lourds, et parmi les éléments toxiques on cite le Cuivre (Cu).

3-1 Naturelles

Le cuivre est présent naturellement dans la croûte terrestre et dans les océans, les lacs, les rivières sous différentes formes et concentrations. C'est un des métaux existant à l'état natif, cependant il est majoritairement présent sous la forme de minerais. La teneur moyenne en cuivre de l'écorce terrestre est de 55 ppm. La concentration moyenne en cuivre varie entre 13 et 24 mg/kg dans les sols (18).

Les émissions naturelles de Cu dans l'atmosphère provenant de poussières et d'aérosols produits par l'érosion éolienne, les éruptions volcaniques, les sels marins et les feux de forêts peuvent parvenir aux sols et modifier leurs teneurs en Cu. (10)

Dans les eaux, le cuivre provient pour la majeure partie de l'érosion des sols par les cours d'eaux (68%), de la contamination par le sulfate de cuivre (13%) et des rejets d'eaux usées qui contiennent encore du cuivre (Cu), même après traitement.(4)

3-2 Anthropiques

Les principales sources anthropiques du cuivre sont les déchets agricoles (55%) suivies par les déchets urbains (28%) et les retombées atmosphériques (16%) (1).

Certaines activités anthropiques sont à l'origine d'un enrichissement des sols en éléments en traces métalliques comme le cadmium (Cd) et le cuivre (Cu) (18).

Parmi les sources industrielles et urbaines de contamination des sols en Cu, l'activité minière et le traitement des minerais, l'utilisation d'installations électriques (câblages) en cuivre (Cu) ainsi que la production et l'incinération de déchets municipaux provoquent une pollution localisée des sols. (4)

4 Le cuivre

4-1 Caractéristiques

Tableau N°8 : les caractéristiques physico-chimiques du cuivre (29).

Symbole	Cu
Numéro atomique	29
Masse molaire	63,546g /mol
Masse volumique	8.96 g/cm ³ à 20 °C
Point de fusion	1 084.62 °C
Point d'ébullition	2 562C°
Résistivité	0.01724 Ω.mm ² /m à 20 °C

4-2 La toxicité

D'après les travaux de **Benjama et al., 2015**, les valeurs d'Indices de Contamination (IC) relevées par le cuivre, montrent qu'il existe une pollution du sédiment par le cuivre au niveau de la station 1 au nord du lac (12).

4-2-1 La toxicité aigüe

La concentration létale de cuivre en 48h pour 50% des larves d'huitres plates serait de 1 à 3 µg/L et des inhibitions de croissance du phytoplancton se produisent à partir de 4 µg/L (4).

Les voies d'absorption du cuivre sont : la voie orale et l'inhalation (31). D'après **Dhaou-El-Djabine**, des teneurs totales en Cu ≤ 7ppm entraînent des carences cupriques et en revanche des toxicités apparaissent au-delà de 180ppm. Chez l'homme, des symptômes de toxicité aiguë se manifestent par des diarrhées, nausées, vomissements, irritations intestinales. 1gramme de CuSO₄ constitue une dose mortelle ; pour plus de 44 mg/l d'eau de boisson, il y a manifestation de gastro-entérites (12).

L'excès de cuivre dans le corps humain est rarement d'origine alimentaire mais plutôt dû à la prise de suppléments (12).

4-2-2 La toxicité chronique

Le Cu est un stimulant du système nerveux. En excès, il provoquerait un syndrome schizophrénique. L'insomnie adulte et le sommeil léger des personnes âgées sont probablement induits par une hypercuprémie (4).

Le mode de transmission est

- ❖ **Inhalation** le cuivre et ses dérivés induisent une irritation des voies aériennes supérieures et des troubles gastro-intestinaux (anorexie, nausée, diarrhée). Une diminution du taux d'hémoglobine et du nombre d'érythrocytes a été également observée ainsi que des lésions hépatiques (fibrose, cirrhose micronodulaire, angiosarcome, hypertension portale [5].
- ❖ **Ingestion** le cuivre peut induire une insuffisance hépatique aiguë et une hépatosplénomégalie. Le sulfate de cuivre induit une nécrose hépatiques centrolobulaire et une nécrose tubulaire rénale [5].
- ❖ **Contact cutané** le cuivre et ses dérivés peuvent provoquer des réactions allergiques chez certains individus [5].

L'exposition au cuivre peut également provoquer une anémie, une décoloration de la peau et des cheveux (4).

4-3 La biorémédiation du cuivre

Plusieurs études ont été réalisées sur la biorémédiation à travers les souches fongiques vis-à-vis le cuivre tel que les recherches de **Sag et al., 2002**, dans le cas de *Rhizopus arrhizus*, ou la capacité d'adsorption atteint 0.53 mmol/g (26).

Ce qu'il concerne les souches bactériennes et d'après les travaux de **Chang et al., 1997** pour les *Pseudomonas aeruginosa*, ou la capacité maximale d'absorption de cuivre atteint 0.29 mmol/g (11).

Aussi, *Cupriavidus metallidurans* est l'une des bactéries qui joue un rôle important dans la dépollution du cuivre selon **Von Rozycki and Nies, 2009** (30).

Et autre, pour les algues (*Ulothrix zonata*) atteint la valeur 2.77 mmol/g de cuivre (23).

4-4 Les effets sanitaires

Tableau N°9 : les effets du cuivre sur la santé [6].

Le cuivre	<p>Une exposition au cuivre à long terme peut provoquer une irritation au nez, à la bouche et aux yeux.</p> <p>Une irritation des voies aériennes supérieures.</p> <p>Des troubles gastro-intestinaux.</p> <p>Une diminution du taux d'hémoglobine et du nombre d'érythrocytes est observée chez des salariés exposés à des concentrations de 0,64 à 1,05 mg de cuivre/m³.</p> <p>Une pneumopathie interstitielle.</p> <p>Des lésions hépatiques : fibrose, cirrhose micronodulaire, angiosarcome, hypertension portale</p>
-----------	--

5 Impact des métaux lourds (cuivre) sur l'environnement

La toxicité du cuivre sur les organismes est définie par les CL₅₀, généralement, elle est beaucoup plus aiguë chez les organismes aquatiques que chez l'homme.

Le cuivre est susceptible d'exercer des effets délétères sur la reproduction, les processus biogéochimiques, la physiologie et le comportement des organismes et pour les écosystèmes au niveau des communautés. Chez les poissons, il s'accumule dans le foie et les branchies, et il inhibe la respiration (15).

Chez les végétaux, le cuivre est essentiel pour la synthèse de la chlorophille. Mais, en quantité suffisante (concentrations supérieures à 5 ~mole/litre, il diminue la croissance des racines et des parties extérieures des plantes (15).

Chez les algues, les CL₅₀ sont comprise entre $1,2 \cdot 10^{-3} \mu\text{g Cu.l}^{-1}$ pour *Aulacoseira granulata* (diatomées) et $0,34 \mu\text{g Cu.l}^{-1}$ pour *Microcystis aeruginosa* (Cyanobactéries) ou le cuivre inhibe la croissance et la photosynthèse (16).

6 La pollution métallique

La pollution métallique pose un problème particulier, car les métaux ne sont pas biodégradables. En outre, tout au long de la chaîne alimentaire, certains se concentrent dans les organismes vivants (1).

La lagune méditerranéenne, Oubeira, est un écosystème sensible et la grande variabilité spatiotemporelle de ses conditions environnementales la rend favorable aux risques de pollution engendrés notamment par les rejets anthropiques qui contiennent des polluants inorganiques.

Parmi les polluants, il y a les métaux lourds, qui sont au début considérés comme des éléments naturels, essentiels au développement des organismes vivants avec des concentrations très faibles, alors que les concentrations élevées de ces éléments deviennent toxiques.

Contrairement à de nombreux produits organiques toxiques, les traces d'éléments ne sont pas éliminées d'une manière biologique puis, par conséquent, sont sujettes à un effet cumulatif dans les différentes composantes de l'écosystème (eau, sédiments, faune et flore) (30).

CHAPITRE III

Les champignons sont des microorganismes hétérotrophes, peuvent être saprophytes, parasites ou vivre en symbiose avec d'autres végétaux. Ils ont colonisés presque tous les milieux terrestres et même aquatiques (en eaux douces, saumâtres et même marines).

1 Définition d'un champignon

Un champignon est un organisme eucaryote unicellulaire (levures) ou pluricellulaire (champignon filamenteux), dépourvu de chlorophylle, il est constitué d'un thalle unicellulaire comme la plupart des micromycètes ou des macromycètes [1].

2 Classification fongique

Selon l'arrangement de Kwon chung et Bennet (1992), [1] :

Domaine : Eucaryotes

Règne : champignons

Division : -Ascomycotina

(Phylum) -Basidiomycotina

-Zygomycotina

-Chytridiomycotina

-(Deuteromycotina)

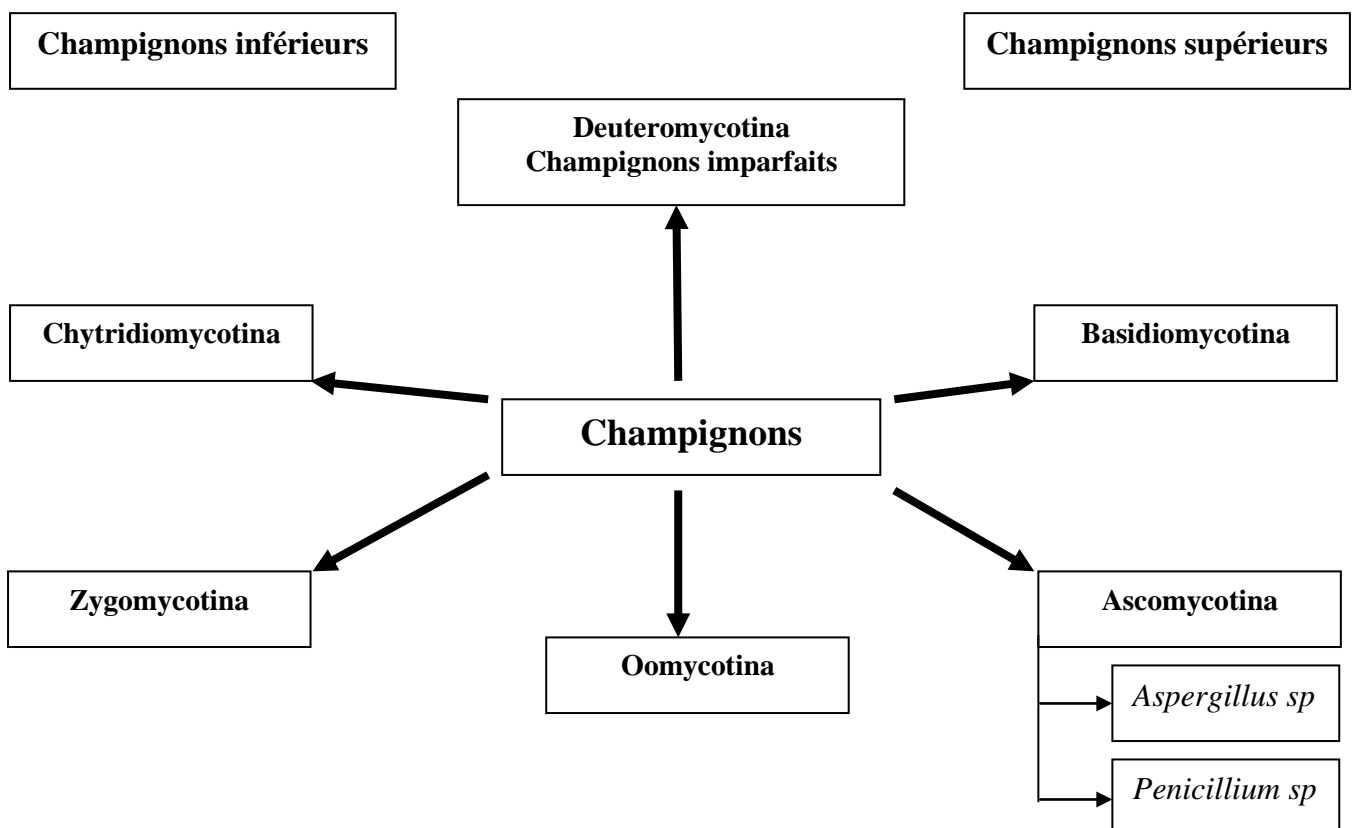


Figure N°5 : Les différentes classes des souches fongiques [1].

3 Le thalle végétatif

Le thalle est un enchevêtrement de nombreux filaments (mycélium) très fins et ramifiés.

Il se présente selon la forme :

- plasmodiale (*myxomycètes*) ex : *Mucilago crustacea*
- unicellulaire (ex : levures) ex : *Saccharomyces cerevisiae*
- pluricellulaire filamenteux (les autres) ex : *Aspergillus niger* [2].

B 4 La reproduction chez les champignons

On distingue chez les champignons, deux types de reproduction :

- ❖ Asexuée, la cellule fongique se divise par simple mitose, ex : chez *Penicillium claviforme*.
- ❖ Sexuée, elle intègre un processus de fusion cytoplasmique, de caryogamie et de méiose. Chez une même espèce, la multiplication de type sexué issue d'un stade morphologique particulier appelé téléomorphe et une multiplication asexuée issue d'un autre développement appelé stade anamorphe, chez *Penicillium bacillosporium* [1].

5 Les champignons filamenteux

Les champignons filamenteux sont composés d'un appareil végétatif appelé thalle, et composés de hyphes enchevêtrés les uns par rapport aux autres, et l'ensemble des hyphes constituent un réseau appelé mycélium.

Généralement, les hyphes sont diffus, tubulaires avec un diamètre compris entre 2 et 15 µm et sont ramifiés (21).

5-1 Identification des champignons filamenteux

L'identification des champignons filamenteux se base sur plusieurs analyses, une morphologiques (macroscopiques, microscopiques) et une analyse moléculaire (21).

5-1-1 Analyse morphologique

5-1-1-1 Macroscopiques

Lors de l'analyse macroscopique des colonies obtenues après culture des champignons filamenteux, plusieurs aspects de l'appareil végétatif sont observés :

- l'aspect : duveteux, laineux, cotonneux, velouté, poudreux, granuleux ou glabre.

- le relief : plat, plissé ou cérébriforme.
- la taille : petite, ou envahissante.
- la couleur : blanche, crème ou colorée (verte, brune, orangée, violette, grises...).

La présence d'un pigment diffusant dans la gélose ainsi que certains paramètres telle la vitesse de la pousse des colonies ou la température de développement peuvent être de bons indicateurs pour l'identification d'une moisissure (21).

5-1-1-2 Microscopique

Lors de l'analyse microscopique des colonies, plusieurs structures des champignons filamenteux sont observées comme l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores.

- le thalle végétatif : septé (diamètre étroit et régulier de 2 à 5 μm) ou siphonné (filaments peu ou pas ramifiés, diamètre large et irrégulier de 5 à 15 μm), paroi pigmentée (mélanisée) ou non (hyaline).
- les organes de fructifications : présence ou non d'organes protecteurs des conidies, modes de formation des conidies (issues directement du thalle, solitaires (aleuriospores) ou en chaînes (arthrospores)).
- les spores : endogènes (endospores) ou exogènes (conidiospores ou conidies), l'aspect des spores améropores (unicellulaires et de petite taille), didymospores (bicellulaires) ; phragmospores (pluricellulaires à cloisons transversales), dictyospores (pluricellulaires à cloisons transversales et longitudinales), scolécospores (étroites et effilées)], présence ou non de chlamyospores (21).

Les spores toujours unicellulaires de forme variable, globuleuse, subglobuleuse ou elliptique. Les phialides peuvent être directement insérées sur la vésicule (tête unisériée), ou portées par des articles insérés sur la vésicule : les métules (tête bisériées). L'ensemble vésicule et conidies constitue la tête aspergillaires qui caractérise le genre *Aspergillus*.

Quand au diagnostic d'espèce. Il sera porté sur un ensemble de critères macroscopiques et microscopiques :

Certaines espèces, apparaissent parfois en culture avec des formations sexuées (stade téléomorphe). Ce sont des coléistothèces contenant des asques arrondis renfermant chacun 8 ascospores [1].

5-2 Analyse moléculaire

Les méthodes d'identification des champignons filamenteux par biologie moléculaire reposent sur l'analyse des séquences portant l'information génétique.

Les techniques de biologie moléculaires s'intègrent progressivement aux côtés des méthodes mycologiques classiques, et tendent à se généraliser dans les laboratoires spécialisés. L'émergence de la PCR (Polymérase Chain Réaction) a permis d'importants progrès des techniques moléculaires.

Les différentes méthodes proposées permettent d'étudier le polymorphisme génétique des différents champignons filamenteux et de les discriminer à différents niveaux taxonomiques par l'étude de l'ensemble du génome, d'un ou plusieurs gènes ou d'un fragment d'ADN bien définis.

Plusieurs techniques sont appliquées : Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs) est basée sur le polymorphisme de taille des fragments de restriction et a été utilisée pour la discrimination d'espèce d'*Aspergillus*, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), basée sur le polymorphisme de l'ADN amplifié au hasard, a permis de mettre en évidence une différenciation des souches de *Penicillium roqueforti*.

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLPA), qui est une combinaison de la PCR et de la RFLP, a permis de discriminer différentes espèces d'*Aspergillus*. Ces méthodes sont généralement assez coûteuses et longues à mettre en œuvre. De plus, certaines de ces méthodes présentent des limites dues au manque de sensibilité et de reproductibilité et à la nécessité d'une standardisation des protocoles, notamment lors de l'extraction de l'ADN (21).

CHAPITRE IV

Notre travail a été reparté en deux types d'analyse qui ont été réalisés au niveau de laboratoire de microbiologie de l'université de Guelma, une analyse microbiologique dans le but d'avoir une revivification et identification des souches conservées et autre une biorémédiation vis-à-vis des métaux lourds cas du cuivre.

1 La revivification des souches

1-1 Milieux de cultures utilisés

Nous avons utilisé des milieux de culture systématiquement favorables au développement des micromycètes, suivant les méthodes employées et les souches étudiées, les milieux de culture utilisés sont les suivants : Sabouraud simple, Sabouraud chloramphénicol, Czapek simple, Czapek concentré, Tryptone -Glucose-Extrait-Agar (TGEA). (Voir annexe)

1-2 Stérilisation des milieux

La stérilisation a pour but de détruire tous les microorganismes présents au départ dans le milieu, est réalisé dans un autoclave par la vapeur d'eau sous pression, à haute température, habituellement pratiquée à 120C° pendant 20 minutes.

1-3 Coulage des boîtes

Les différents milieux de culture utilisés : Sabouraud simple, Sabouraud chloramphénicol, Czapek concentré, Czapek simple, Tryptone-Glucose-Extrait-Agar (TGEA), sont coulés dans des boîtes de pétri en surfusion près du bec bunsen, et on laisse refroidir.

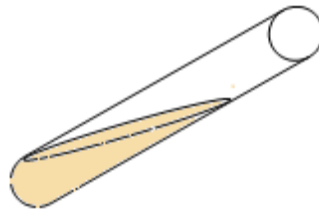
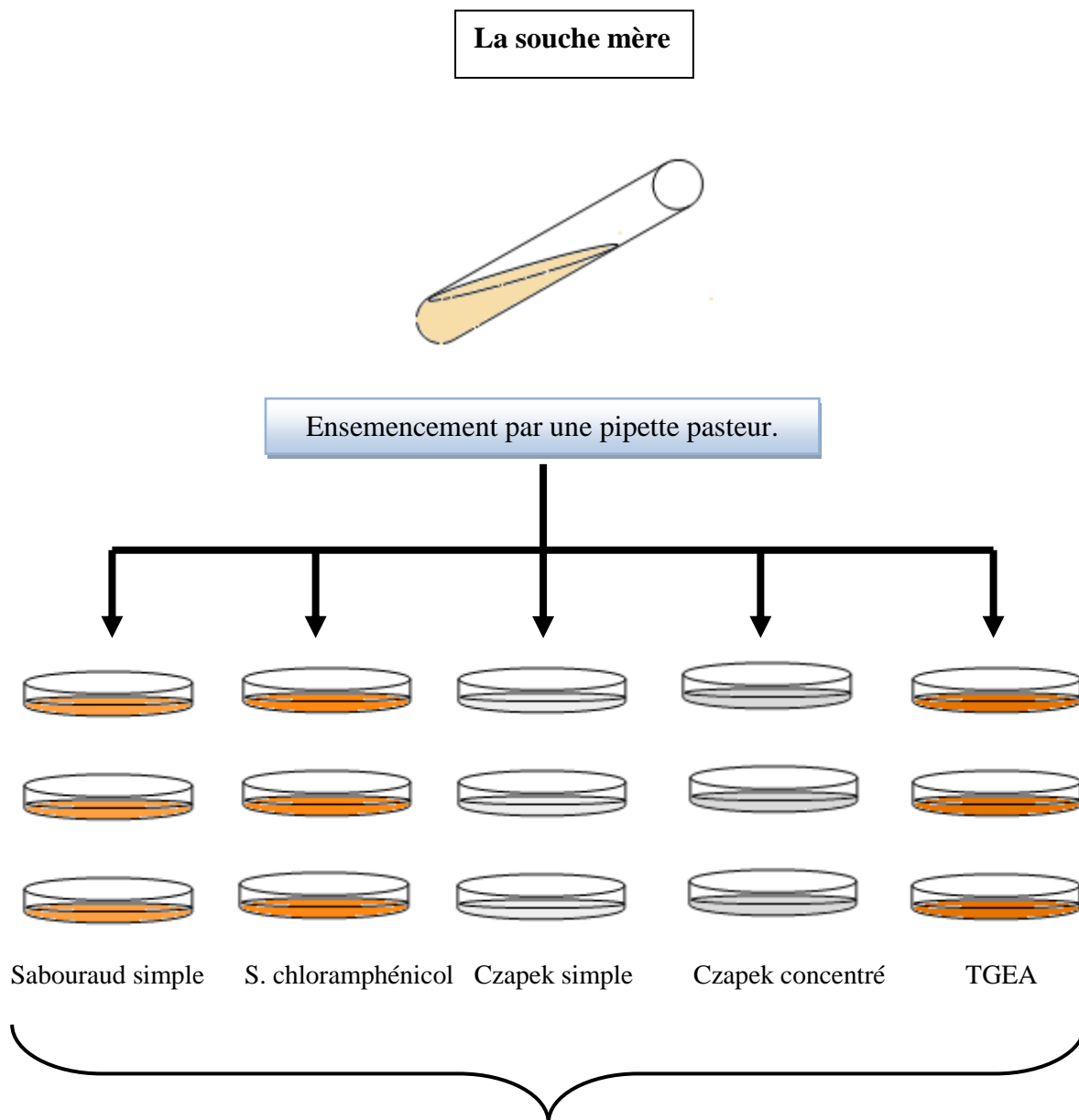
1-4 Ensemencement et incubation

Tout en respectant les conditions d'asepsie et en manipulant toujours dans la zone stérile

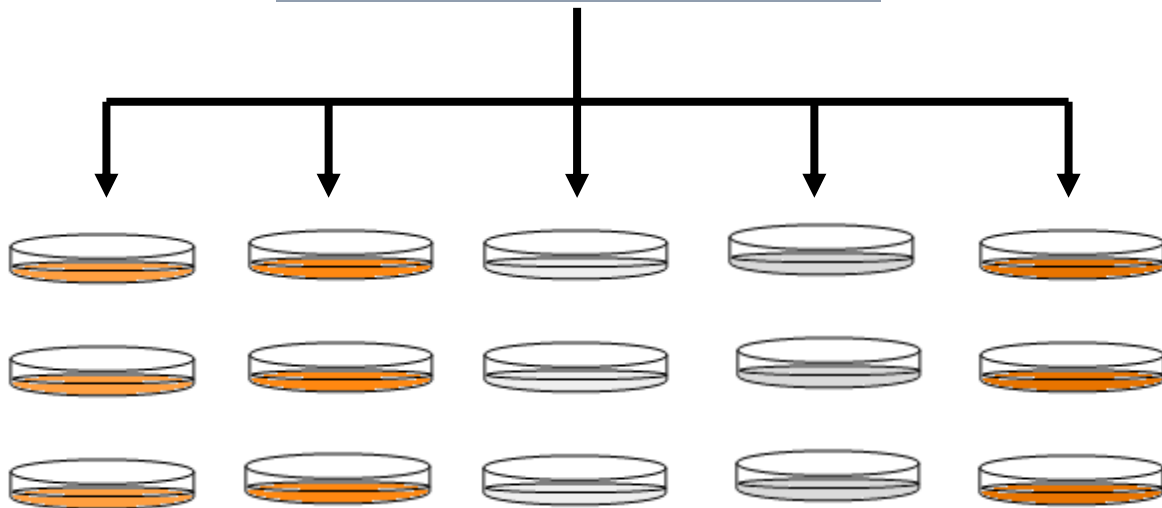
- ✓ Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur, un fragment mycélien
- ✓ Mettre directement sur la surface des milieux précédents
- ✓ La procédure doit être répétée trois fois sur chaque milieu, à chaque fois on utilisant une pipette pasteur stérile
- ✓ Toutes les boîtes ensemencées sont incubées dans une étuve à 28 °C

1-5 Lecture

Les boîtes mises en culture sont lues à différents intervalles de temps à partir du premier jour afin de noter les caractéristiques et les diamètres des colonies pour les identifier.



Ensemencement par une pipette pasteur.



Sabouraud simple S. chloramphénicol Czapek simple Czapek concentré TGEA



Incubation : 28°C pour tous les milieux

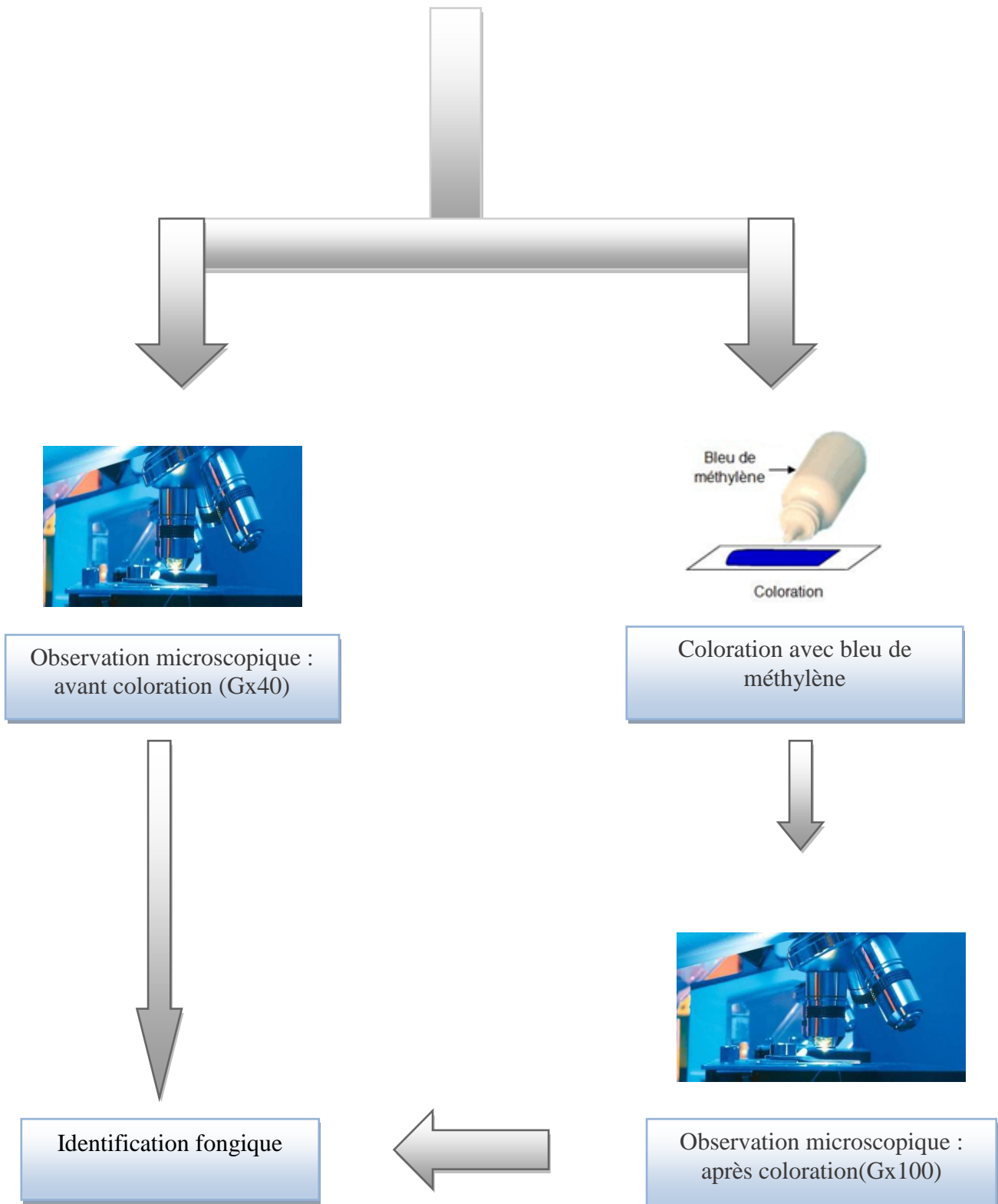


Figure N°6 : Revivification et Identification des souches fongiques

1-6 Identification macroscopique

Elle permet de connaître

- ✓ Les caractères culturaux
- ✓ La couleur des colonies
- ✓ Exsudat : présence ou absence
- ✓ Odeur : présence ou absence

1-7 Observation microscopique

Elle révèle

- ✓ Les organes de fructification
- ✓ Couleur des spores

1-7-1 Examen à l'état frais

Permet l'observation des champignons vivants en absence de toute coloration.

- ✓ La morphologie des champignons.

-Technique

- On Prélève à l'aide d'une anse de platine un fragment de mycélium de la culture qu'on dépose entre lame et lamelle propres.
- L'observation s'effectue avec le microscope optique à grossissement (x10, x40)

1-7-2 Examen après coloration

- Indispensable pour la morphologie et la structure des champignons.
- Les préparations colorées peuvent être conservées pour d'autres résultats valables en microscope optique. En utilisant la coloration simple.

-Coloration simple (bleu de méthylène)

- ✓ Recouvrir le mycélium avec le bleu de méthylène
- ✓ Laisser agir de 1 à 3 min selon la force de la solution colorante
- ✓ Laver puis sécher délicatement avec un papier filtre fin
- ✓ Additionner l'huile de cèdre
- ✓ Grossissement x100

2 Effet des métaux lourds (cuivre) sur les champignons

2-1 Souches fongiques

Les espèces utilisés sont des souches présentent un excellent modèles pour l'accumulation des éléments en traces (cuivre), ces souches sont conservées sur une gélose inclinées à 4°C.

2-2 Etude de L'effet des métaux lourds (cuivre) sur les champignons

La recherche de la biorémédiation a été réalisée selon la méthode décrite par **Ropane 2009**. Cette détermination est préparée selon la méthode de diffusion, une gamme de concentration stérile de métal allant de 10 à $5 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$ était préparé pour le métal, le milieu de culture doit êtreensemencé par des filaments fongiques purifiés et des concentrations de métal (cuivre) sont disposés aseptiquement dans des boites de pétri contenant le milieu de culture.

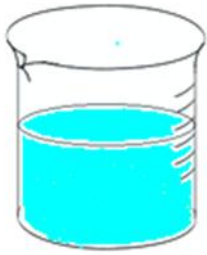
Ces derniers doivent être transférés à l'étuve pour l'incubation pendant 24h - 72h et peut aller jusqu'à 10 jours à 28°C

2-3 Mode opératoire

- ✓ Peser 0.1 g du métal poudre (cuivre).
- ✓ Mesurer 100 ml d'eau physiologique dans un bicher stérile.
- ✓ Agiter le mélange (eau physiologique +cuivre) avec l'échauffement pendant 15 min à 150 °C. Prélever à partir de cette préparation sept concentrations différentes à l'aide d'une micropipette réglable stérile : 10 $\mu\text{g/l}$, 500 $\mu\text{g/l}$, $10^3 \mu\text{g/l}$, $2 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$, $3 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$, $4 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$, $5 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$.
- ✓ Mettez chaque concentration dans un flacon en verre stérile.
- ✓ Mesurer 100 ml de chaque milieu (Sabouraud simple, Sabouraud Chloramphénicol, Czapek Simple, Czapek Concentré, TGEA).
- ✓ Et mélanger ces derniers chacun avec les concentrations précédentes.
- ✓ Couler le mélange (métal +milieu) dans les boites de pétri.
- ✓ Ensemencer les souches obtenues à l'aide d'une pipette pasteur et une lame bistouri.
- ✓ Incubation à l'étuve à 28C° pour toutes les souches.

➤ Le cuivre

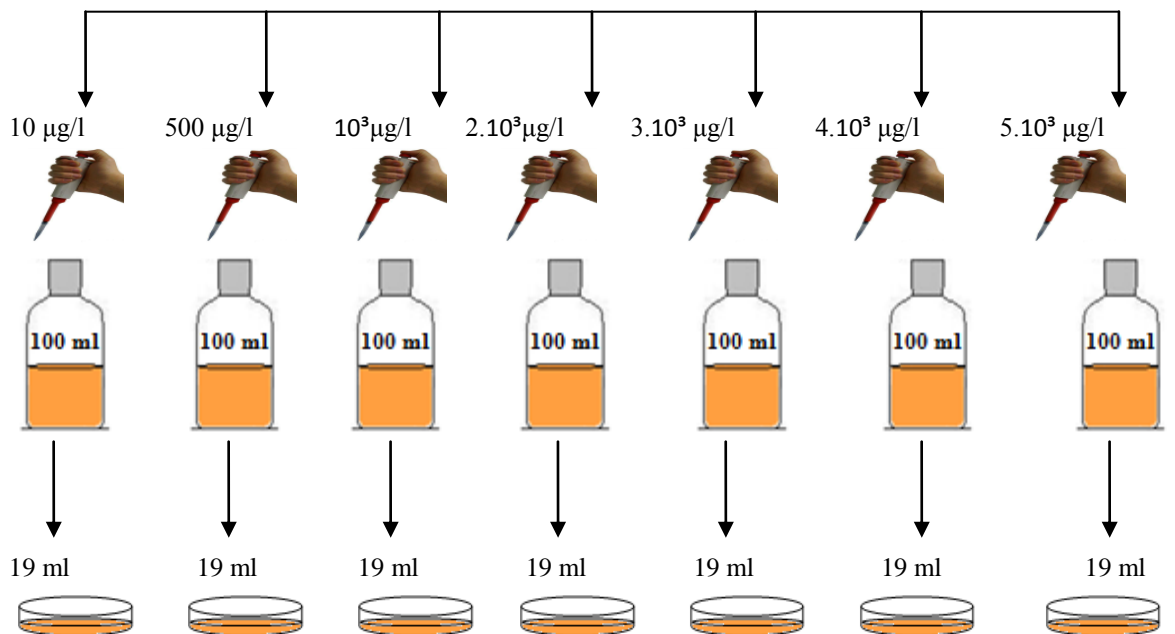
Solution mère



0.1 g de métal (Cu) + 100 ml d'eau physiologique

Agitation pendant 15 min à 150 °C

Prélèvement des concentrations par une micropipette réglable



Sabouraud simple avec 3 répétitions (A, B, C)



Sabouraud Chloramphénicol avec 3 répétitions (A, B, C)

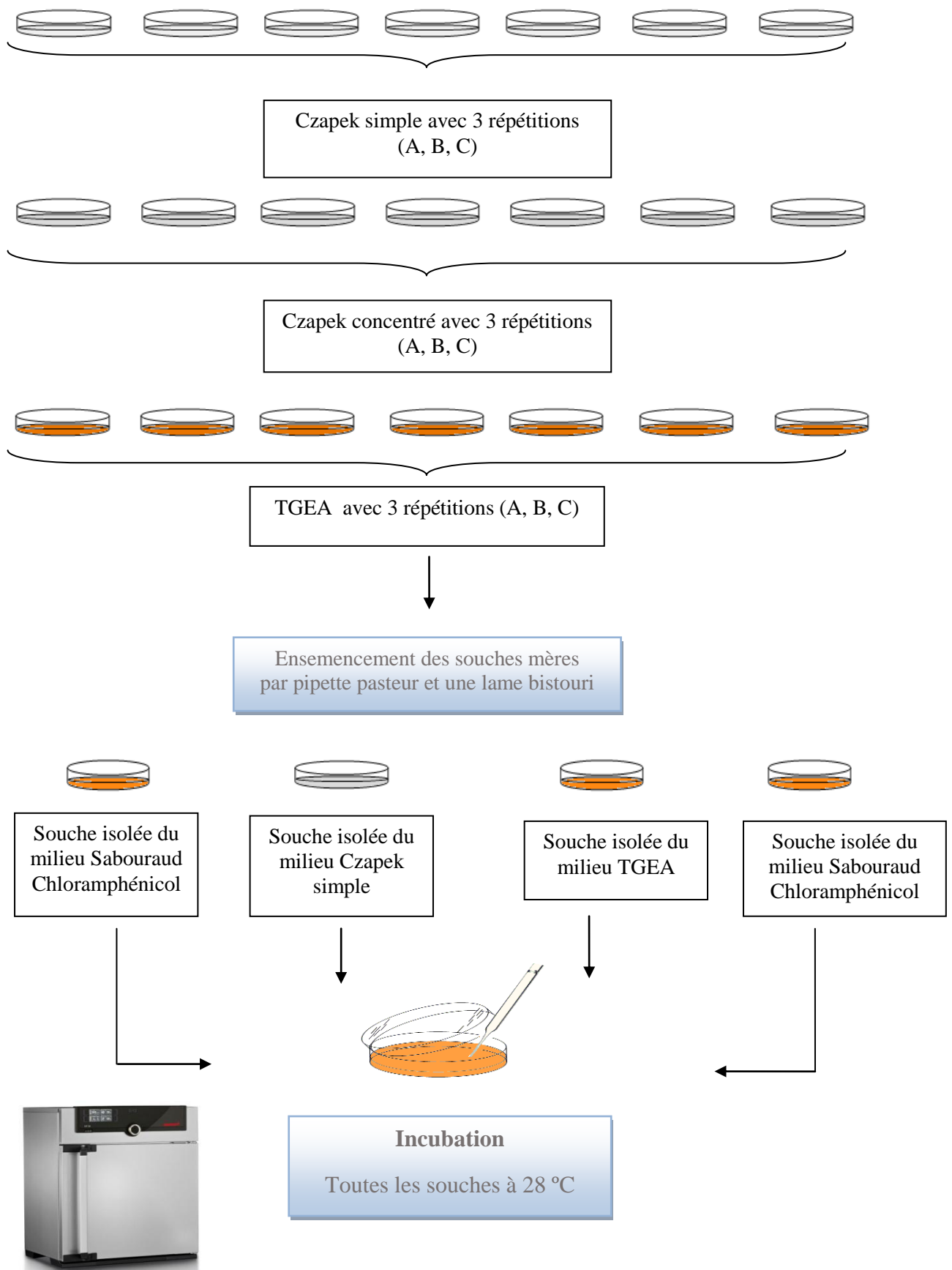


Figure N°7 : Mode opératoire d’ensemencement des souches pour déterminer la biorémediation vis-à-vis le cuivre.

2-4 Etude statistique


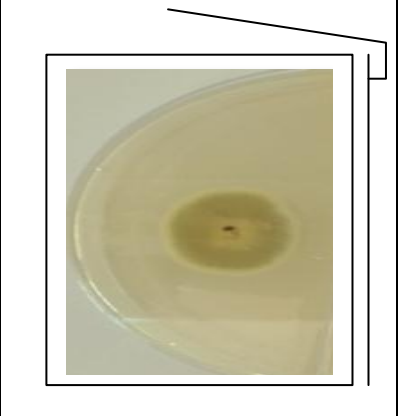


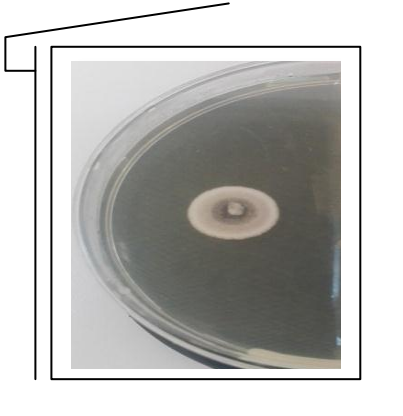
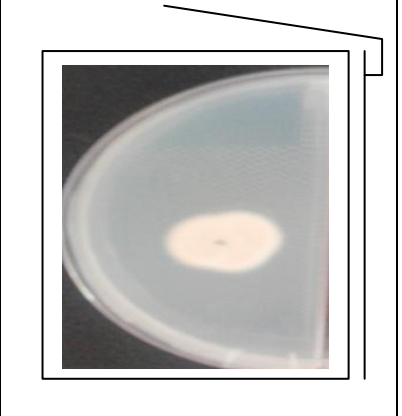


Notre étude statistique à été basée sur l'utilisation d'un logicielle Excel Stat 2014.



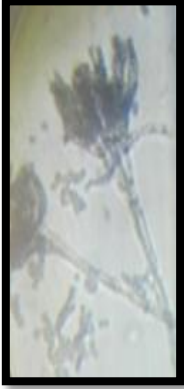
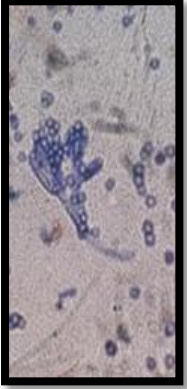




CHAPITRE V

1 Identification fongique

Les résultats permettent de distinguer 4 types des souches différents, après l'identification macro et microscopiques.

Tableau N°10 : Identification macro et microscopique des souches isolées.

		Souche isolée du milieu TGEA (<i>Penecillium</i>)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud simple				
	Caractère culturaux	-Des colonies filamenteuses avec une couleur bleu-verte et une bordure blanchâtre. l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (2.2cm)	- Des colonies plates, et incolores.	- Conidiophore long, lisse, incolore avec des métules courts, et incolore	
	Sabouraud chloramphénicol				
Caractères culturaux	- Des colonies filamenteuses, de couleur grise blanchâtre, l'odeur est désagréable ; avec un aspect poudreux. La croissance est moduré (1.5cm).	- Des colonies filamenteuses, avec une couleur jaunâtre.	- Un Conidiophore long, lisse, et incolore ; avec des métules incolores.		

<p>TGEA</p>				
<p>Caractères cultureux</p>	<p>-Des colonies filamenteuses avec une couleur bleu-verte et une bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (1.9cm)</p>	<p>-Des colonies plates, et incolores.</p>	<p>- Conidiophore long, lisse, et incolore ; avec des métules courts, et incolores.</p>	
<p>Czapek simple</p>				
<p>Caractères cultureux</p>	<p>-Une colonie plate, verte avec une extrémité blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est rapide (2.4 cm).</p>	<p>-Une colonie filamenteuse avec une couleur jaune blanchâtre.</p>	<p>-Conidiophore court, lisse, et incolore ;</p>	

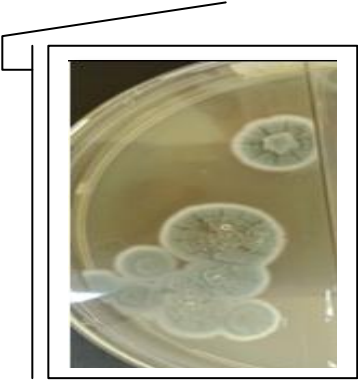




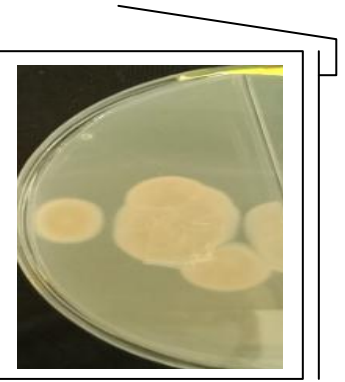







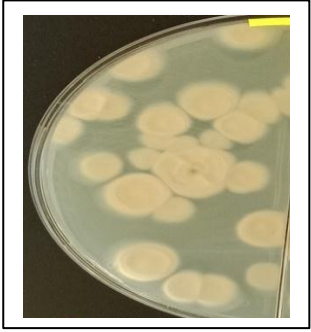
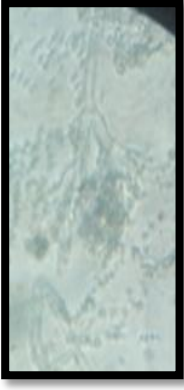
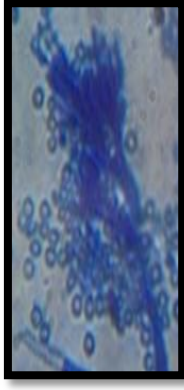
Milieu	Czapek concentré				
	Caractères culturaux	-Des colonies filamenteuses, bleu-verte avec une bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (2.2 cm)	-des colonies filamenteuses avec une couleur blanchâtre.	-Conidiophore court, lisse, et incolore ;	

Tableau N°11 : Identification macro et microscopique des souches isolées.

		Souche isolée du milieu Czapek simple (<i>Penecillium</i>)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud simple				
	Caractères culturaux	-Des colonies filamenteuses, bleu-verte avec une bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (2cm)	-Des colonies filamenteuses avec une couleur jaune blanchâtre.	-Conidiophore court, lisse, et incolore.	

<p>Sabouraud Chloramphénicol</p>				
<p>Caractères culturaux</p>	<p>-Des colonies filamenteuses, bleu-verte avec une bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (2.8cm)</p>	<p>-Des colonies filamenteuses avec une couleur jaune blanchâtre.</p>	<p>-Conidiophore long, lisse, et incolore</p>	
<p>TGEA</p>				
<p>Caractères culturaux</p>	<p>-Des colonies filamenteuses, bleu-verte avec une bordure blanchâtre. L'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (1.8cm)</p>	<p>-Des colonies filamenteuses avec une couleur jaune blanchâtre.</p>	<p>- Conidiophore est long, lisse, et incolore. Les métules sont longs, et incolore.</p>	







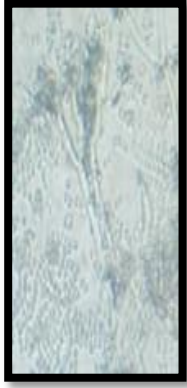
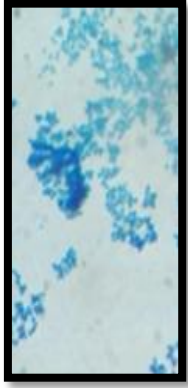



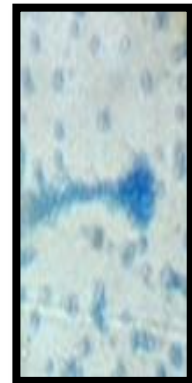

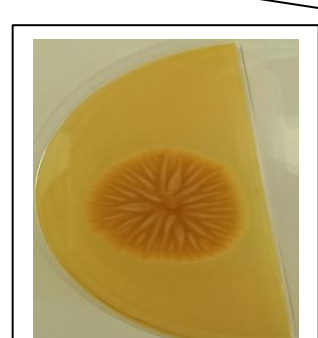

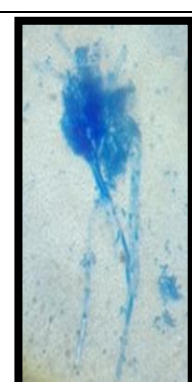


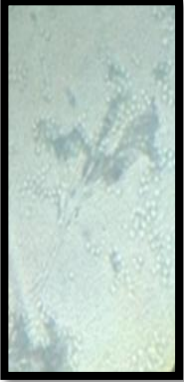
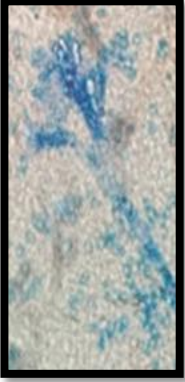




<p>Czapek simple</p>				
<p>Caractères culturaux</p>	<p>-Des colonies filamenteuses, bleu-verte avec une bordure blanchâtre. L'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est moduré (2.1cm).</p>	<p>-des colonies filamenteuses avec une couleur blanchâtre.</p>	<p>- Conidiophore court, lisse, et incolore.</p>	
<p>Czapek concentré</p>				
<p>Caractères culturaux</p>	<p>-Des colonies filamenteuses, bleu-verte avec une bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est moduré (2.2 cm)</p>	<p>-des colonies filamenteuses avec une couleur blanchâtre.</p>	<p>-Conidiophore court, lisse, et incolore ;</p>	

Tableau N°12 : Identification macro et microscopique des souches isolées.

		Souche isolée du milieu Sabouraud simple (<i>Aspergillus</i>)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud simple				
	Caractères culturaux	-Des colonies filamenteuses avec une couleur bleu-verte et une bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est moduré (2.3cm)	- des colonies filamenteuses avec une couleur jaunâtre	-conidiophore : long, lisse, incolore ; avec des métules courts et incolores.	
	Sabouraud Chloramphénicol				
	Caractères culturaux	-Des colonies filamenteuses avec une couleur bleu-verte et une bordure blanchâtre. l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est moduré (2.7cm)	-des colonies filamenteuses avec une couleur jaunâtre.	-conidiophore : long, lisse, incolore ; avec des métules courts et incolores.	

<p>TGEA</p>				
<p>Caractères culturaux</p>	<p>-Des colonies filamenteuses avec une couleur bleu-verte et une bordure blanchâtre. l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est moduré (2.4cm)</p>	<p>-des colonies filamenteuses avec une couleur jaunâtre.</p>	<p>-conidiophore : long, lisse, incolore ; avec des métules courts et incolores.</p>	
<p>Czapek simple</p>				
<p>Caractères culturaux</p>	<p>-Des colonies filamenteuses avec une couleur bleu-verte et une bordure blanchâtre. l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est moduré (2.6cm)</p>	<p>-des colonies filamenteuses avec une couleur jaune-blanchâtre.</p>	<p>-conidiophore : long, lisse, incolore ; avec des métules courts et incolores.</p>	













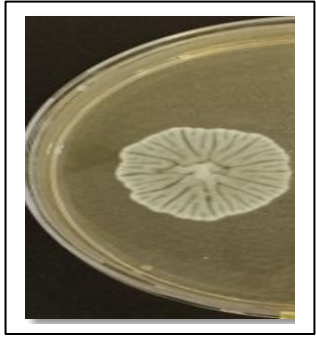
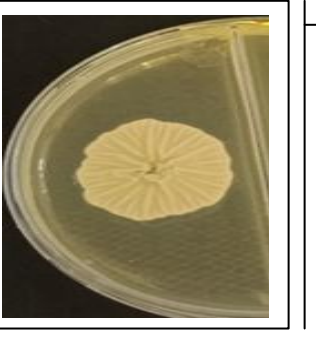

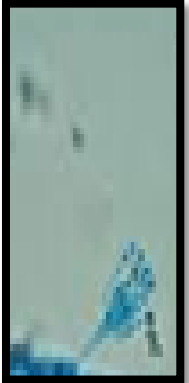
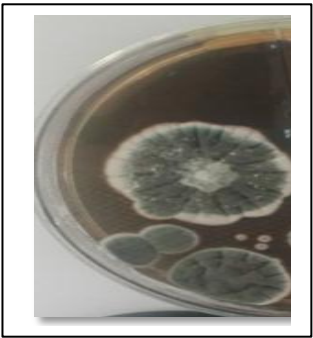





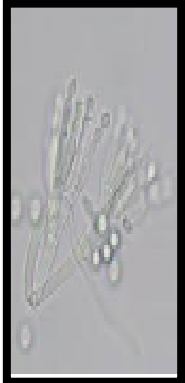

Caractères cultureux	Czapek concentré				
		- Des colonies plates, vertes avec des extrémités blanchâtres, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (2.4 cm).	- Des colonies plates, et incolores.	- Conidiophore court, lisse, et incolore ;	

Tableau N°13 : Identification macro et microscopique des souches isolées.

		Souche isolée du milieu Sabouraud chloramphénicol (<i>Aspergillus</i>)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud simple				
	Caractères cultureux	-Des colonies filamenteuses, de couleur grise blanchâtre, l'odeur est désagréable ; avec un aspect poudreux. La croissance est moduré (2.5 cm).	-des colonies filamenteuses avec une couleur jaunâtre	-Conidiophore lisse, incolore, avec des métules incolores.	

<p>Sabouraud chloramphénicol</p>				
<p>Caractères culturaux</p>	<p>-Des colonies filamenteuses, de couleur grise blanchâtre, l'odeur est désagréable ; avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (3.2 cm).</p>	<p>-des colonies filamenteuses, avec une couleur jaunâtre</p>	<p>-conidiophore lisse, incolore, avec des métules incolores.</p>	
<p>TGEA</p>				
<p>Caractères culturaux</p>	<p>- Des colonies plates, vertes avec des extrémités blanchâtres, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (2.8 cm).</p>	<p>- Des colonies plates, et incolores.</p>	<p>-Conidiophore long, lisse, incolore, avec des métules incolores.</p>	

<p>Czapek simple</p>				
<p>Caractères culturaux</p>	<p>-Des colonies plates vertes, les extrémités sont blanchâtres, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est rapide (2.9 cm).</p>	<p>-Des colonies plates, et incolores.</p>	<p>-Conidiophore long, lisse, et incolore.</p>	
<p>Czapek concentré</p>				
<p>Caractères culturaux</p>	<p>-Des colonies filamenteuses, de couleur grise blanchâtre, l'odeur est désagréable ; avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (3 cm).</p>	<p>-des colonies filamenteuses, avec une couleur jaunâtre.</p>	<p>- un Conidiophore long, lisse, et incolore ; avec des métules incolores.</p>	

II Résultats de la biorémédiation

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir d'accumulation de métaux lourds (cuivre) sur des souches isolées à partir de différents de milieux par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

L'adsorption de ces métaux a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone du développement. Les résultats obtenus sont représentés sur les **figures N°8-15**, et les photos dans les **tableaux N°14-21**.

II -1 Le cuivre

II -1-1 La culture d'une souche isolée à partir d'un milieu Czapek simple

Notre résultat montre que le diamètre le plus élevé a été enregistré pour une souche isolé d'un milieu Czapek simple, à partir du 7^{ème} jour exposé sur deux doses 10µg/L et 10³µg/L ce qui indique que la souche peut accumuler le cuivre à partir des faibles doses 10µg/L et 10³µg/L.

Avec une corrélation positive entre la dose et le milieu Sabouraud simple, et une relation très significative. Et Pour le diamètre le plus faible, a été noté à partir du 12^{ème} jour sur une dose C₆= 4.10³ µg/L, avec une corrélation positive entre la dose et le milieu TGEA.

On conclue que la souche peut piéger les cations métalliques (Cu) grâce à la sélectivité du milieu, ce qui en accord avec les travaux de **Bedioui et Al, 2015**.

Tableau N°14: Matrice de corrélation pour une souche isolée d'un milieu Czapek simple.

	10 µg/L	500 µg/L	10 ³ µg/L	2.10 ³ µg/L	3.10 ³ µg/L	4.10 ³ µg/L	5.10 ³ µg/L
50 µg/L	0.864						
	0.0059						
10³µg/L	0.933	0.866					
	0.0021	0.0058					
2. 10³µg/L	0.484	0.786	0.699				
	0.004	0.001	0.005				
3.10³µg/L	0.438	0.554	0.432	0.508			
	0.004	0.003	0.004	0.003			
4.10³µg/L	0.592	0.804	0.785	0.917	0.202		
	0.002	0.001	0.008	0.002	0.007		
5.10³µg/L	0.126	0.294	0.052	0.109	0.514	0.378	
	0.008	0.006	0.009	0.008	0.003	0.005	0,009

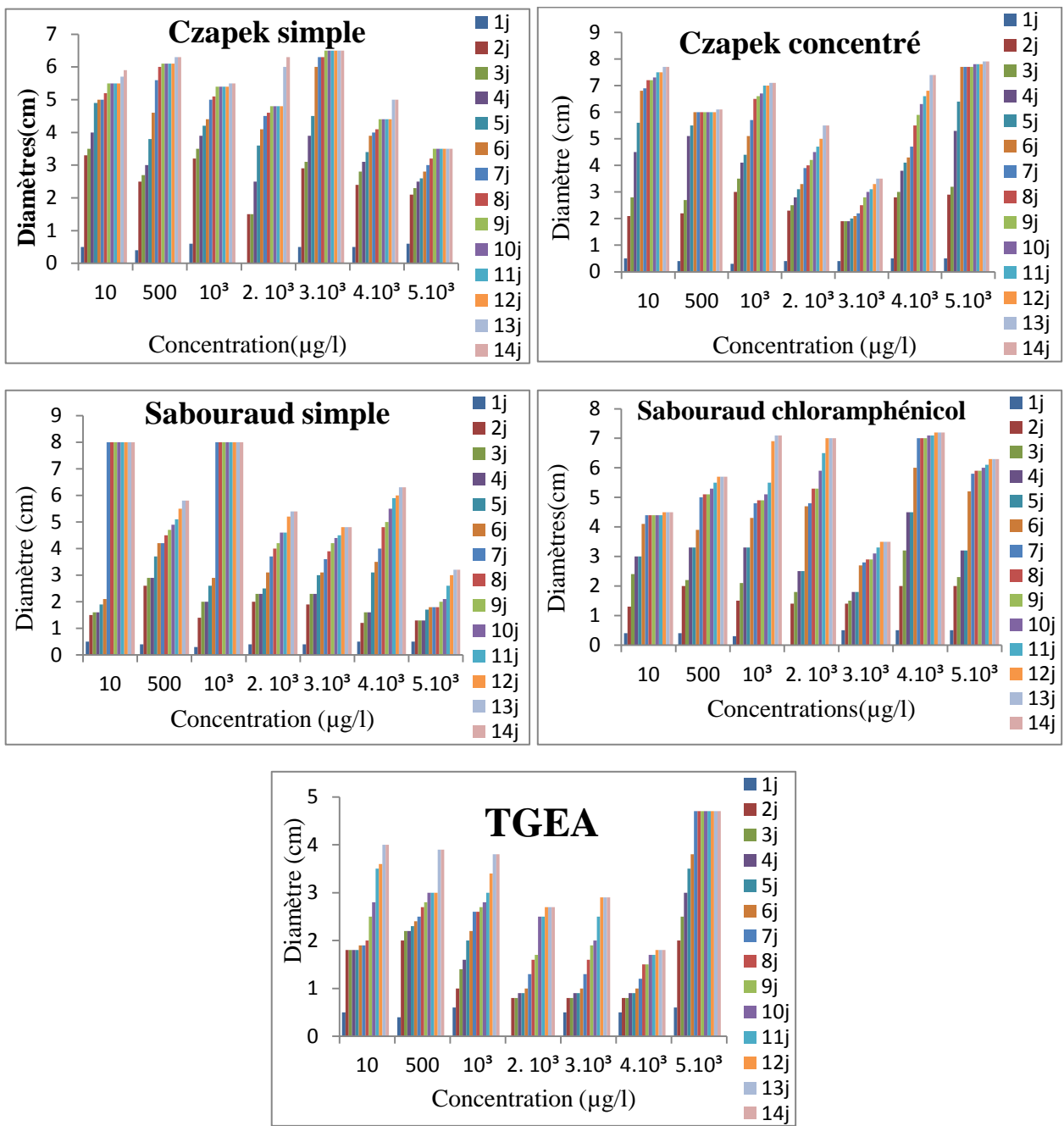


Figure N°8: Diamètre des zones de développement des différents jours en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Czapek simple.

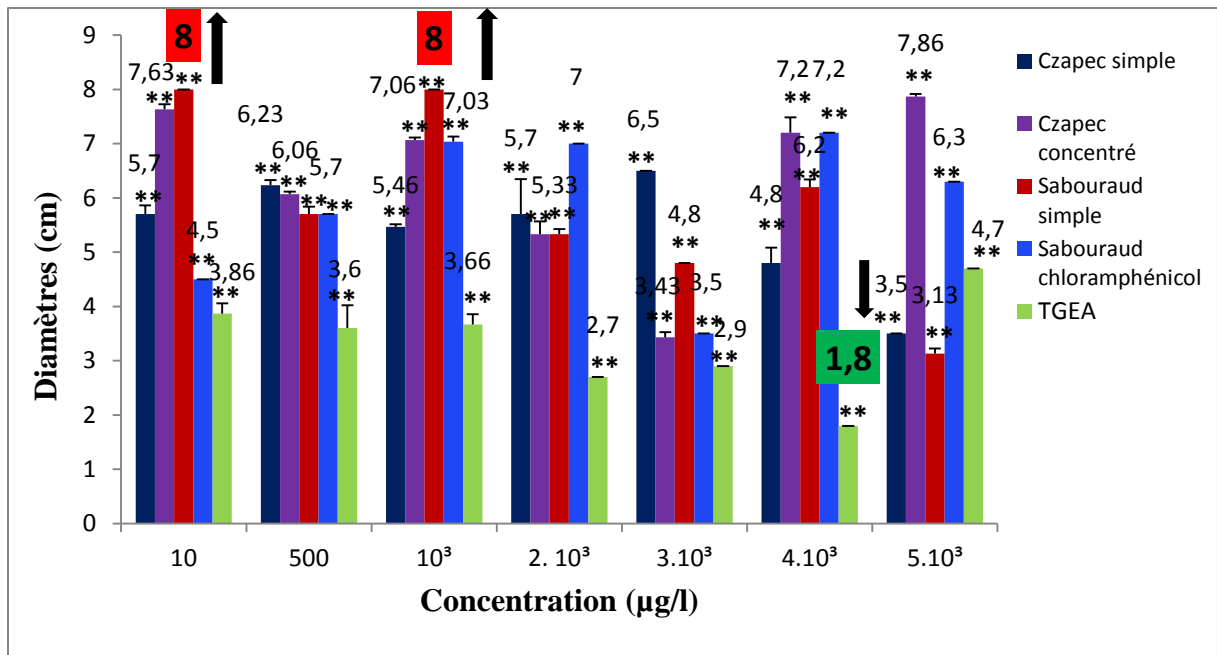

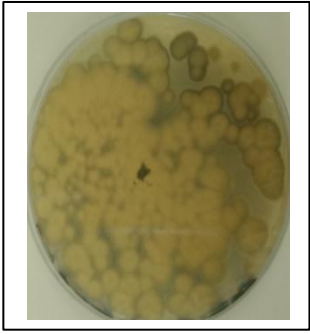


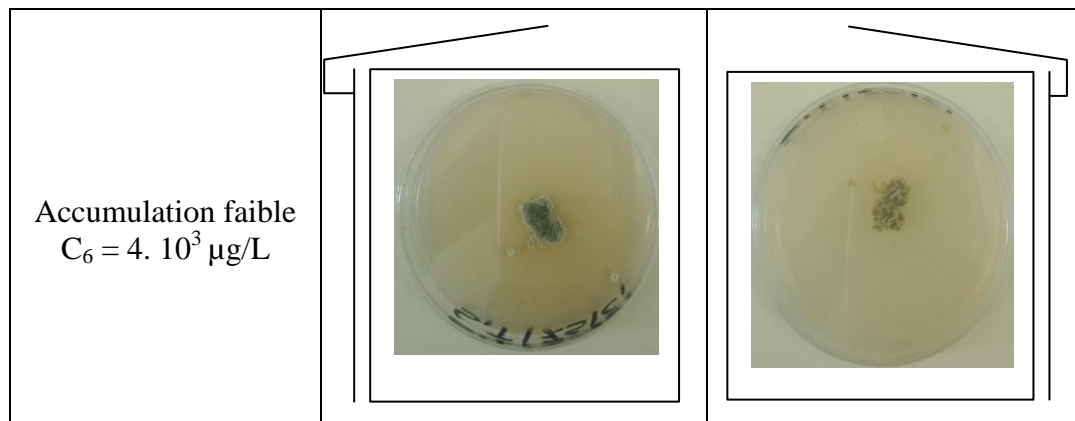


Figure N°9 : Diamètre des zones de développement des différents milieux en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Czapek simple.

Tableau N°15 : Effet du cuivre selon les mesures du diamètre élevé et faible sur la souche isolée à partir du milieu Czapek simple.

		Souche a été isolée à partir du milieu Czapek simple	
		Recto	Verso
Accumulation élevée	C ₁ =10 µg/L		
	C ₃ =10 ³ µg/L		



II -1-2 La culture d'une souche isolée à partir d'un milieu Sabouraud Chloramphénicol

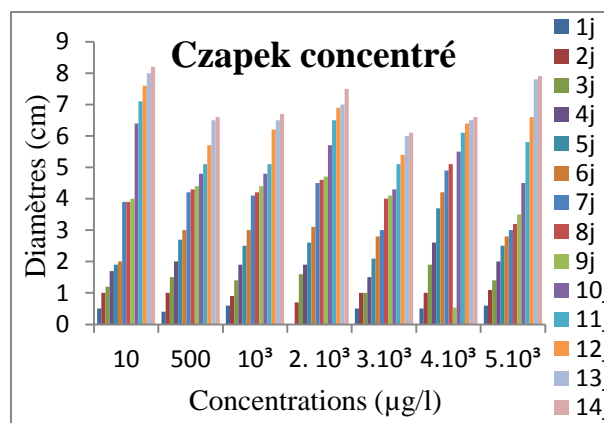
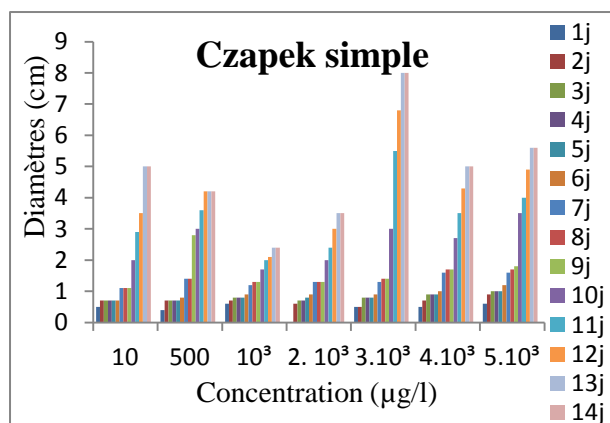
D'après les résultats de la souche isolée du milieu Sabouraud Chloramphénicol, le diamètre le plus élevé a été enregistré à partir du 14^{ème} jour à partir de la première dose 10 $\mu\text{g/L}$, ce qui montre que la souche peut accumuler le cuivre à partir d'une faible dose.

Cette accumulation à une corrélation positive entre la dose et le milieu Czapek concentré avec une relation très significative. Et Pour le diamètre le plus faible, était noté à partir du 9^{ème} jour sur une dose $C_1=10\mu\text{g/L}$, avec une corrélation positive entre la dose et le milieu Sabouraud chloramphénicol.

On conclue que la souche est capable de piéger les cations métalliques (Cu), à cause de la sélectivité du milieu.

Tableau N°16: Matrice de corrélation pour une souche isolée d'un milieu Sabouraud Chloramphénicol.

	10 µg/L	500 µg/L	10 ³ µg/L	2.10 ³ µg/L	3.10 ³ µg/L	4.10 ³ µg/L	5.10 ³ µg/L
50 µg/L	0.447						
	0.004						
10³µg/L	0.981	0.496					
	0.003	0.0039					
2. 10³µg/L	0.980	0.530	0.993				
	0.003	0.0035	0.001				
3.10³µg/L	0.887	0.325	0.783	0.812			
	0.004	0.0059	0.0011	0.009			
4.10³µg/L	0.978	0.393	0.950	0.970	0.907		
	0.004	0.00513	0.0013	0.006	0.0034		
5.10³µg/L	0.899	0.349	0.847	0.893	0.921	0.968	
	0.0038	0.00565	0.0070	0.0041	0.0026	0.007	0.001



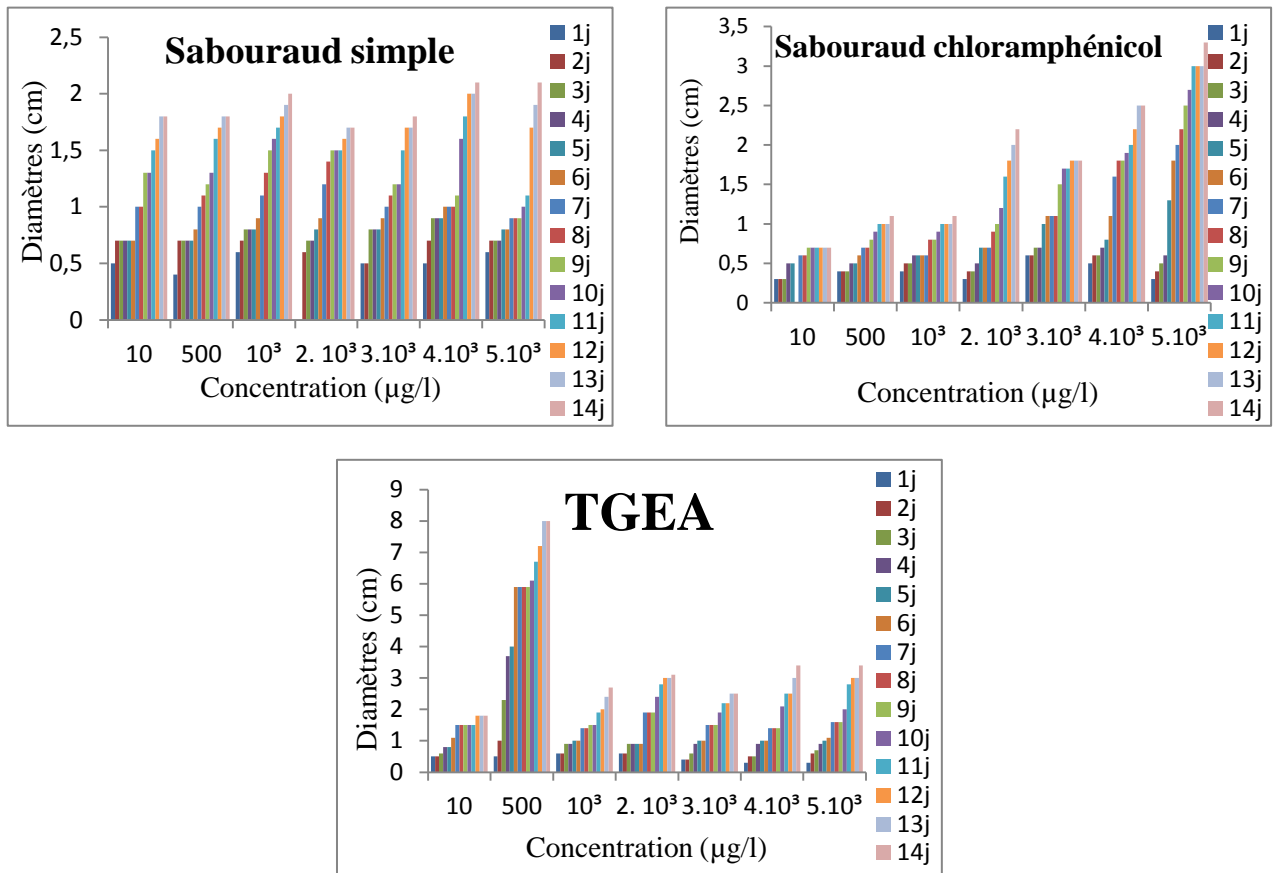


Figure N°10 : Diamètre des zones de développement des différents jours en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Sabouraud Chloramphénicol.

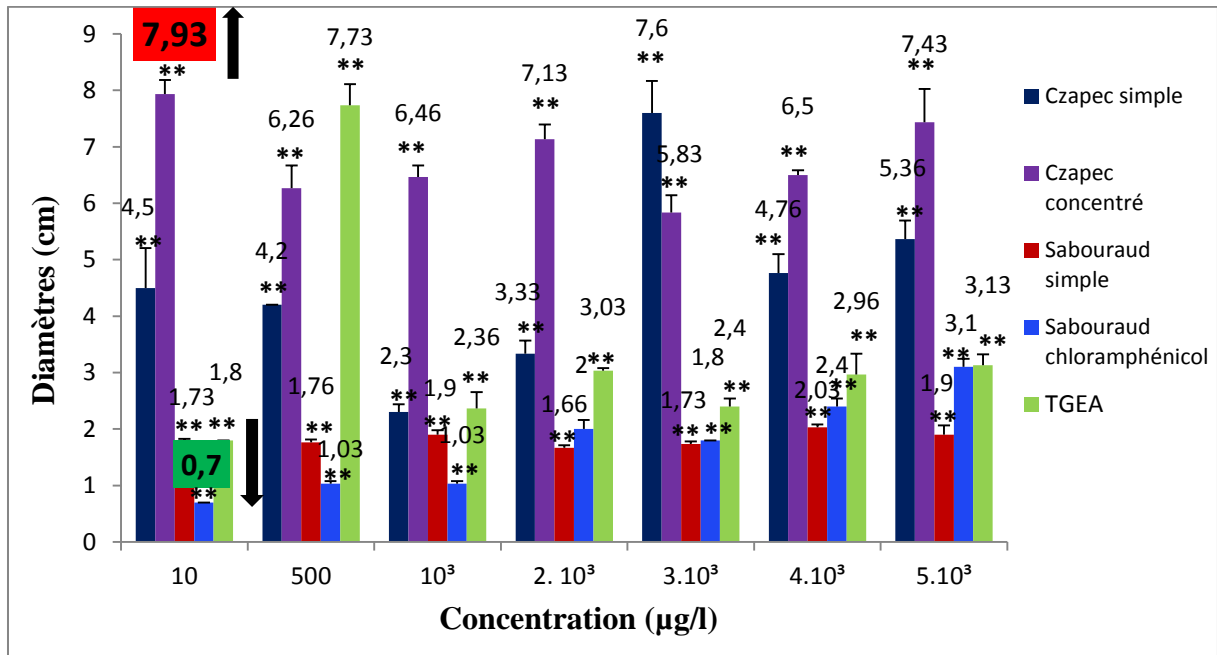


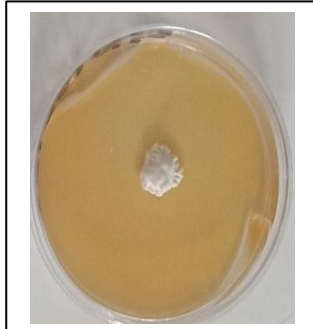
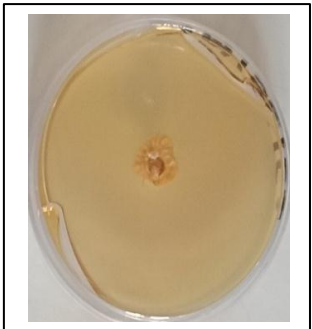


Figure N°11 : Diamètre des zones de développement des différents milieux en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Sabouraud Chloramphénicol.

Tableau N°17 : Effet du cuivre selon les mesures du diamètre élevé et faible sur la souche isolée à partir du milieu Sabouraud Chloramphénicol

		Souche a été isolée à partir du milieu Sabouraud chloramphénicol	
		Recto	Verso
Accumulation élevée $C_1=10 \mu\text{g/L}$			
	Accumulation faible $C_1 =10 \mu\text{g/L}$		

II -1-3 La culture d'une souche isolée à partir d'un milieu Sabouraud chloramphénicol

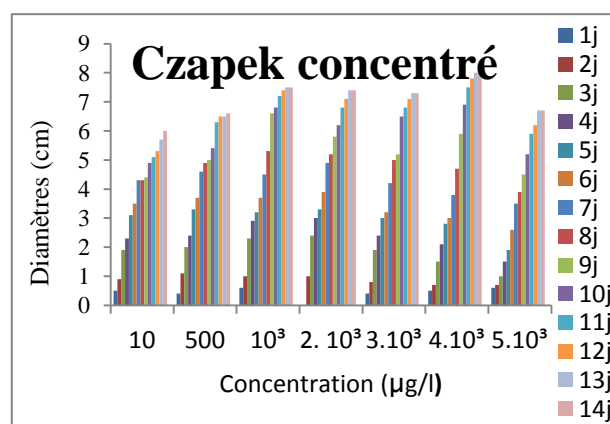
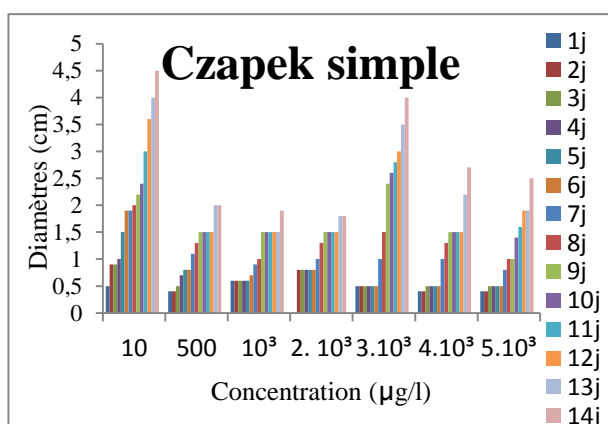
Pour cette souche qui a été isolé du milieu sabouraud chloramphénicol, le diamètre le plus élevé été enregistré à partir du 13^{ème} jour sur une dose $C_6= 4.10^3 \mu\text{g/L}$, ce qui confirme que la souche peut accumuler le Cuivre.

Avec une corrélation positive entre la dose et le milieu Czapek simple et une relation très significative, ce qui confirme que la souche peut accumuler le Cu. Et Pour le diamètre le plus faible, a était noté à partir du 9^{ème} jour sur une dose $C_7= 5.10^3 \mu\text{g/L}$, avec une corrélation positive entre la dose et le milieu Sabouraud chloramphénicol.

On conclue que la souche est capable de piéger les cations métalliques (Cu), à cause de la sélectivité du milieu, ce qui en accord avec les travaux **de Ropane, 2009** (25).

Tableau N°18 : Matrice de corrélation pour une souche isolée d'un milieu Sabouraud chloramphénicol.

	10 µg/L	500 µg/L	10 ³ µg/L	2.10 ³ µg/L	3.10 ³ µg/L	4.10 ³ µg/L	5.10 ³ µg/L
50 µg/L	0.801						
	0.104						
10³µg/L	0.654	0.965					
	0.232	0.008					
2. 10³µg/L	0.942	0.739	0.647				
	0.017	0.154	0.238				
3.10³µg/L	0.423	0.778	0.877	0.410			
	0.478	0.122	0.051	0.493			
4.10³µg/L	0.376	0.769	0.902	0.436	0.966		
	0.532	0.128	0.036	0.462	0.007		
5.10³µg/L	0.327	0.797	0.915	0.327	0.953	0.970	
	0.591	0.107	0.029	0.591	0.012	0.006	0.003



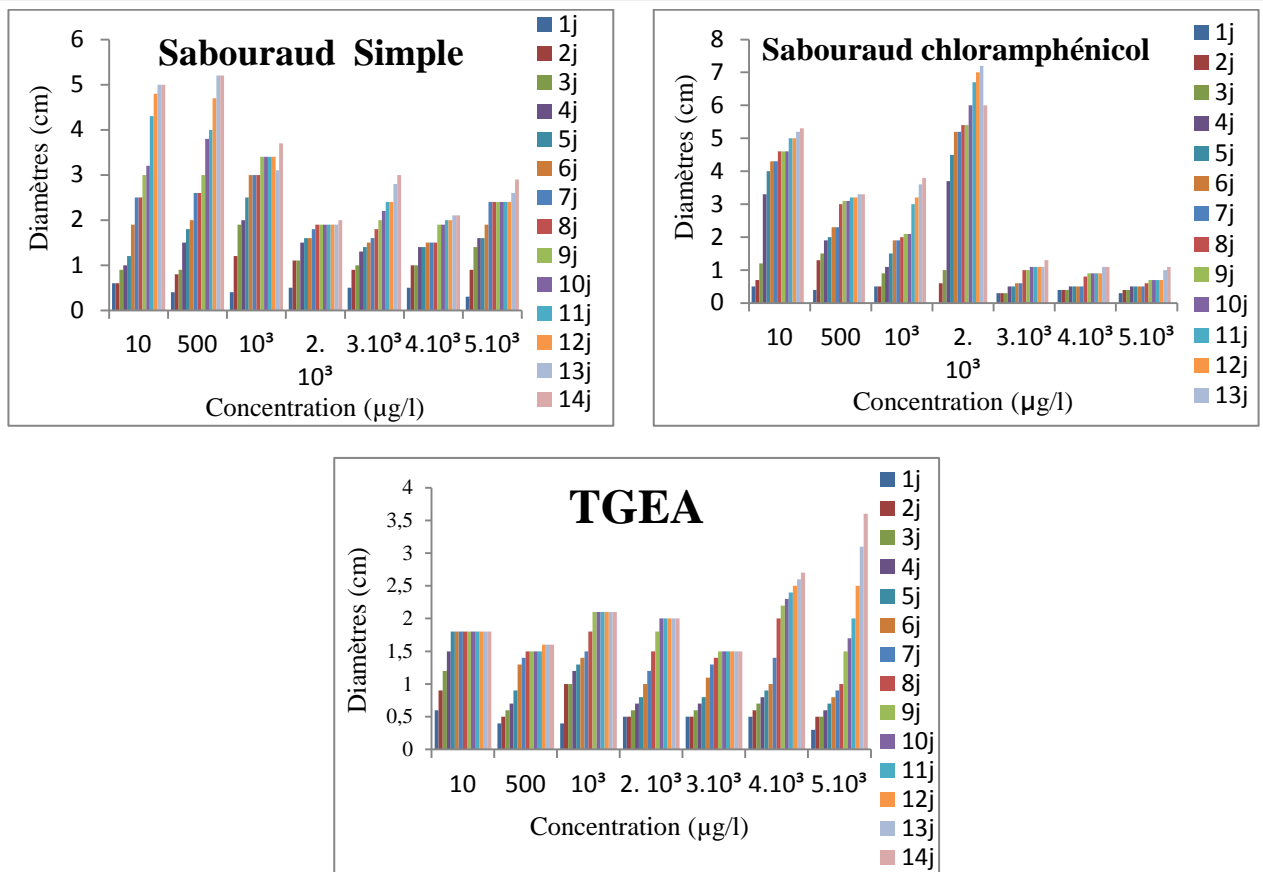


Figure N°12 : Diamètre des zones de développement des différents jours en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Sabouraud chloramphénicol.

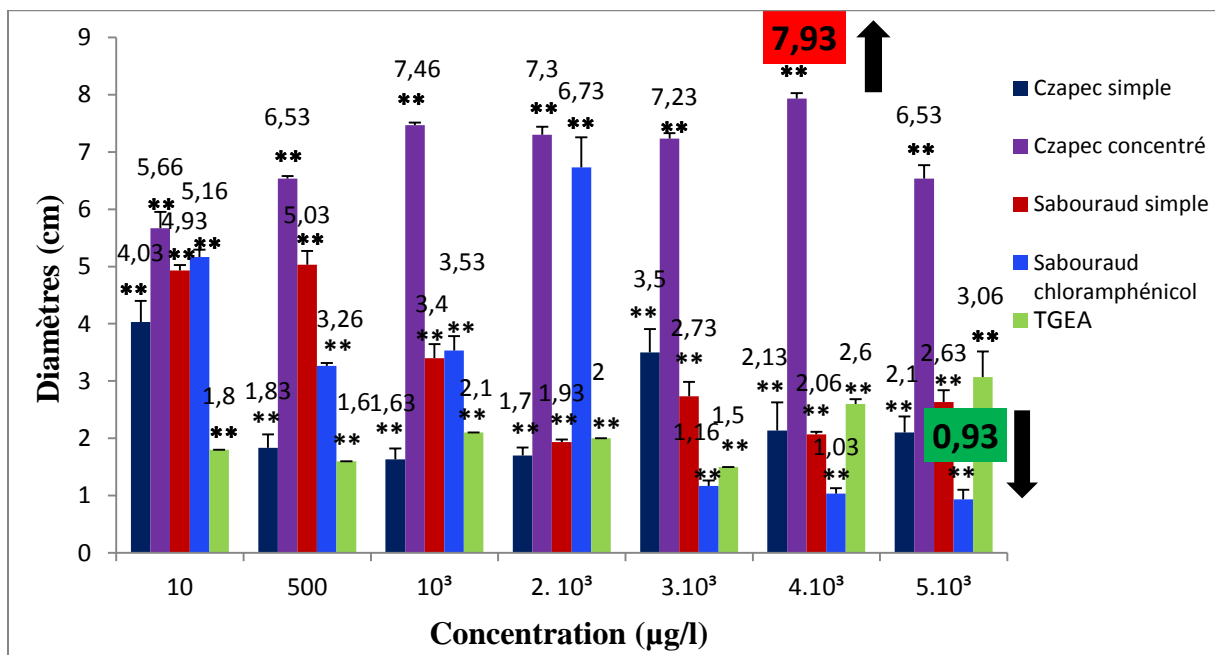

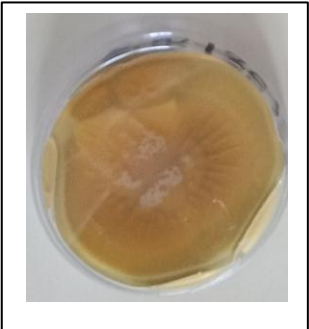




Figure N°13 : Diamètre des zones de développement des différents milieux en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du Sabouraud chloramphénicol.

Tableau N°19 : Effet du cuivre selon les mesures du diamètre élevé et faible sur la souche isolée à partir du milieu Sabouraud Chloramphénicol.

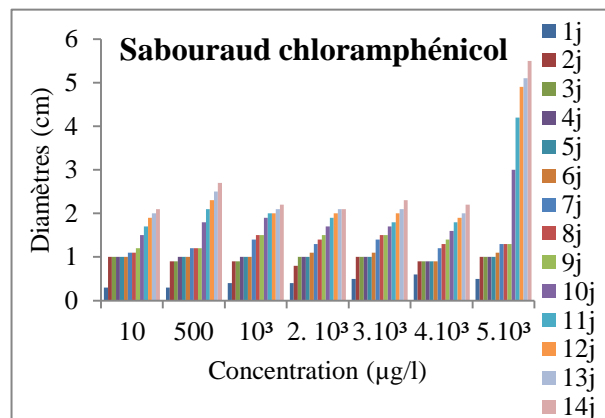
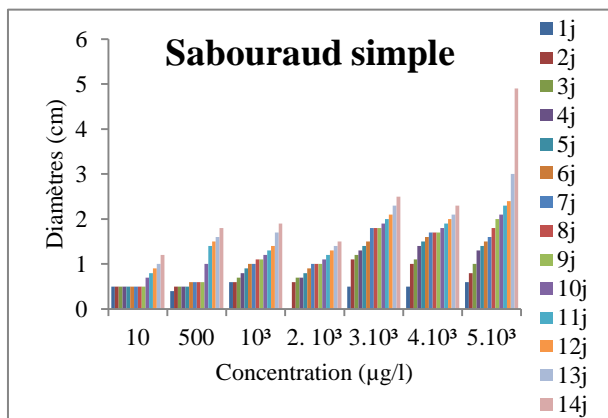
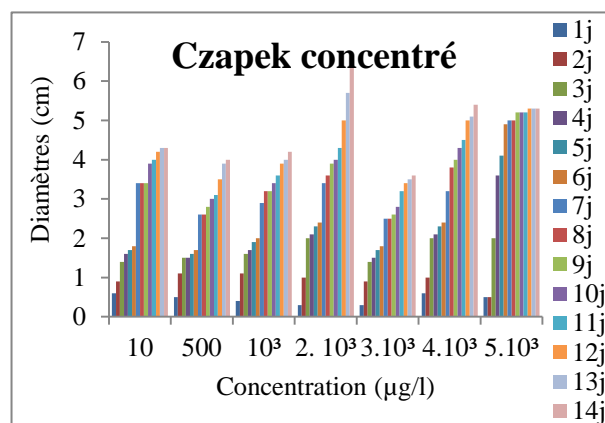
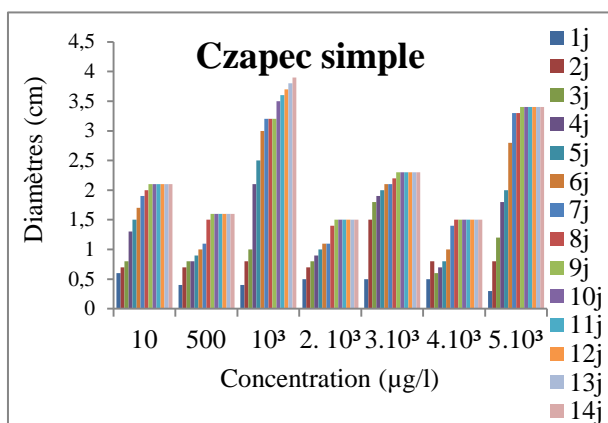
		Souche a été isolée à partir du milieu Sabouraud chloramphénicol	
		Recto	Verso
Accumulation élevée			
Accumulation faible			

II -1-4 La culture d'une souche isolée à partir d'un milieu TGEA

Notre résultat montre que le diamètre le plus élevé a été enregistré pour une souche isolée et purifiée à 28°C d'un milieu TGEA, à partir du 14^{ème} jour exposé à une dose C6= 4.10³ µg/L, ce qui indique que la souche peut accumuler le Cuivre à partir d'une haute dose. Avec une corrélation entre la dose et le milieu Czapek concentré, et une relation très significative se qui conclue que la souche peut piéger les cations métalliques (Cu), ce qui en accord avec les travaux **d'Eric Forest., 1992.**

Tableau N°20: Matrice de corrélation pour une souche isolée d'un milieu TGEA.

	10 µg/L	500 µg/L	10 ³ µg/L	2.10 ³ µg/L	3.10 ³ µg/L	4.10 ³ µg/L	5.10 ³ µg/L
50 µg/L	0.955						
	0.001						
10³µg/L	0.863	0.692					
	0.006	0.001					
2. 10³µg/L	0.919	0.971	0.618				
	0.002	0.006	0.002				
3.10³µg/L	0.816	0.707	0.903	0.686			
	0.009	0.001	0.003	0.002			
4.10³µg/L	0.830	0.896	0.554	0.959	0.738		
	0.008	0.004	0.003	0.0001	0.001		
5.10³µg/L	0.981	0.964	0.825	0.947	0.863	0.906	
	0.003	0.008	0.004	0.001	0.006	0.003	0.000



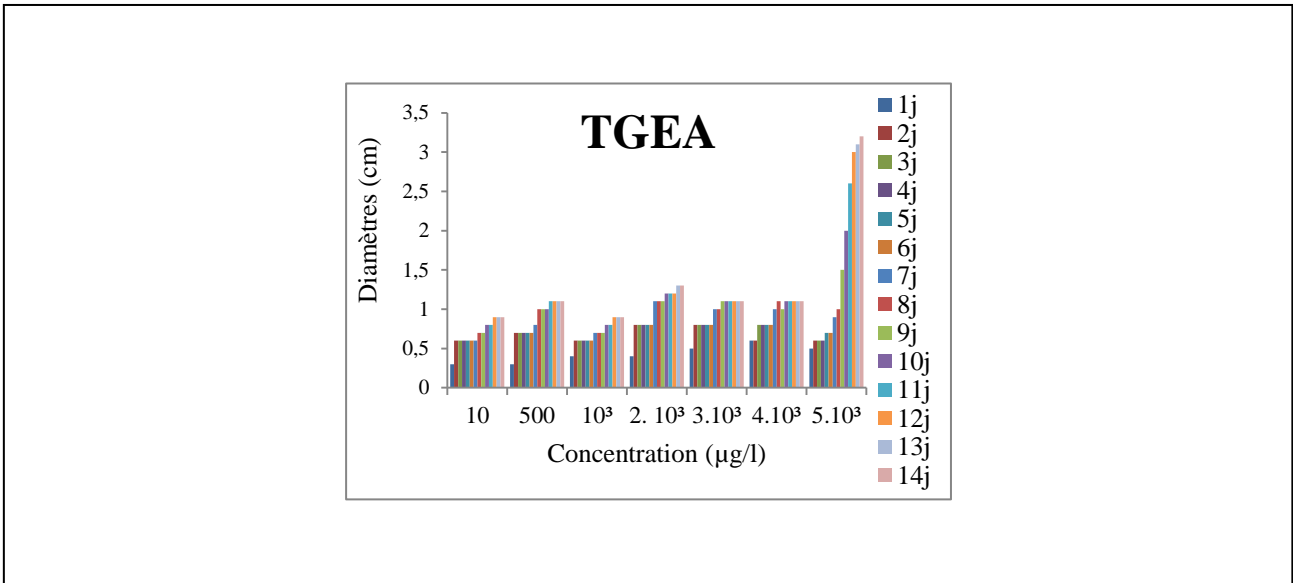


Figure N°14: Diamètre des zones de développement des différents jours en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du TGEA.

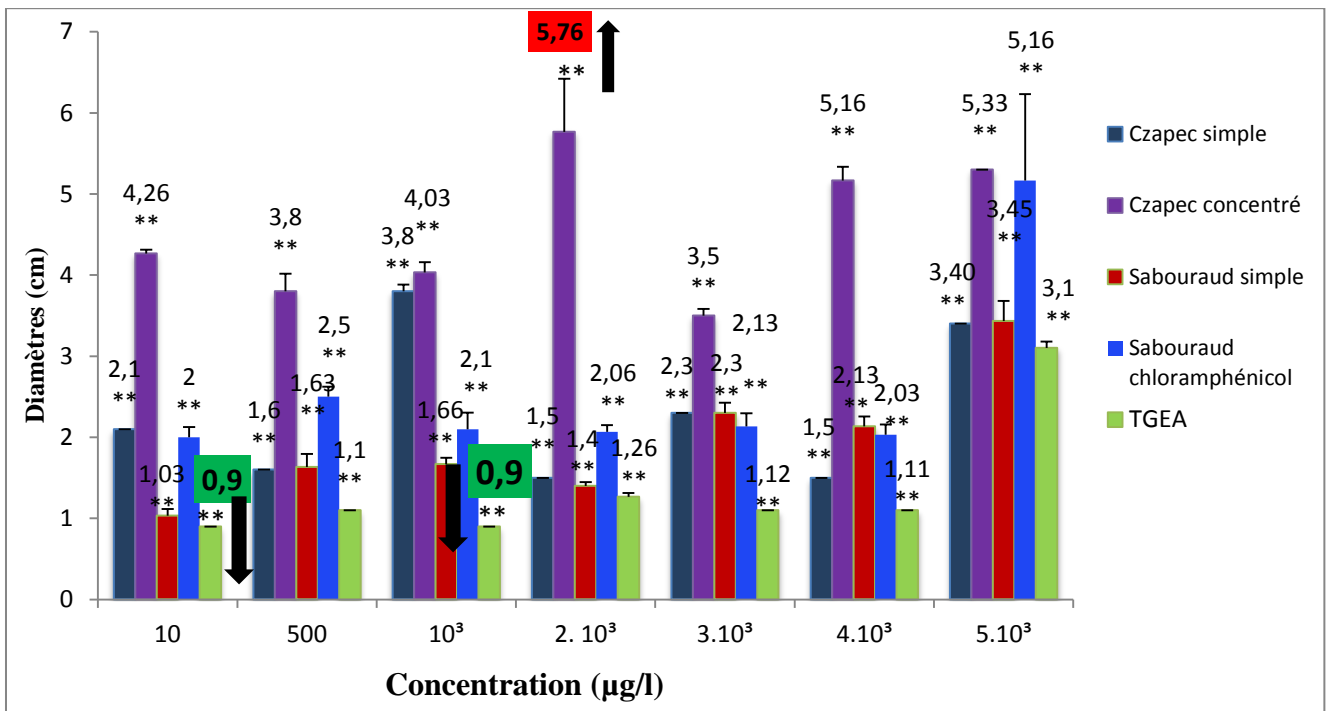


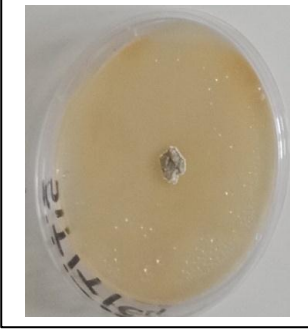
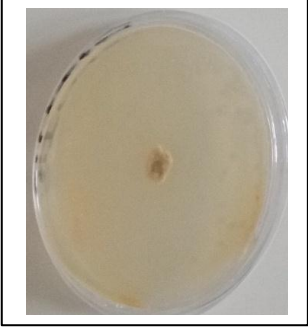


Figure N°15 : Diamètre des zones de développement des différents milieux en fonction de la dose vis-à-vis la souche isolé du TGEA.

Tableau N°21 : Effet du cuivre selon les mesures du diamètre élevé et faible sur la souche isolée à partir du milieu TGEA.

		Souche a été isolée à partir du milieu TGEA	
		Recto	Verso
Accumulation élevée			
Accumulation faible			

CONCLUSION

Conclusion

Lac Oubeira est une zone humide localisée aux Nord-est algérien, présente une organisation spatiale typique d'une végétation en ceintures, il est Considéré comme un site d'hivernage par excellence car il contient également plusieurs espèces d'oiseaux rare.

Ce travaille nous à parmi d'indiquer la richesse potentielle des souches fongiques après leur revification et surtout quant il est isolées identifiées à partir de ces eaux ainsi que leur tolérances vis a vie des métaux lourds cas du cuivre.

Une forte bioaccumulation pour ces derniers métaux à était remarqué pour la souche isolée à partir du milieu Czapek simple et autre du Sabouraud chloramphénicol, sur différent milieux Sabouraud Chloramphénicol, Czapek simple et concentré par contre la souche isolée à partir du TGEA chez autre milieux Sabouraud simple et concentré et le même milieu d'isolement qui ont subirent des faible dose allant de 10 à 4. 10³µg/l.

En perspective il sera très intéressant de mener une étude plus approfondie en étudiant

- Une comparaison entre nos souches fongiques et autre microorganismes (bactérie, algue) capables d'accumulée les même métaux
- Une Identification moléculaires de nos souches.
- Utilisation d'autre différents concentration et milieu

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- (1). **Abdelsadok. N., Kammoun. I.** Effet des métaux lourds (Cuivre et Zinc) sur les paramètres morfo-physiologiques et biochimiques chez la fève (*Vicia faba L.*). Mémoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Biodiversité et environnement. 2018, p84.

- (2). **Alayat. H., Kherici. N., et Lamouroux, C., (2014),** Evolution spatial de l'envasement du lac oubeira impose par l'érosion (Extrême algérienne), Revue le journal de l'eau et l'environnement, p28-38.

- (3). **Belabed. B., Bendjema. A., Boudjelida. H., Djabri. L., and Bensouilah. M., (2011).** Evaluation of the metal contaminations in the surface sediments of the Oubeira lagoon, National park of El Kala, Algeria, Archives of Applied Science Research, 3(4), p51-62.

- (4). **Benjama. A.** Variations de la qualité des eaux et son impact sur le sol des zones humides du PNEK. Thèse de Doctorat. Université Badji Moukhtar Annaba, 2014. p238.

- (5). **Bendjama. A., Djabri. L., Chouchane. T., Boukari. A., et Tlili. S.,** La contamination métallique des eaux lacustres des zones humides du PNEK située au Nord-Est algérien, In Actes de la conférence internationale de 2014 sur l'énergétique appliquée et la pollution. Thèse de Doctorat. 2014. p8.

- (6). **Bendjema. A., Morakchi. K., Meradi. H., Boukari. A., Chouchane. T., Belaabed. B. E., et Djabri. L., (2011),** Caractérisation des matériaux biologiques issus d'un écosystème naturel « pnek » situe au nord-est de l'algerie, Journal de la Société Algérienne de Chimie, 21(1). p45-58.

- (7). **Bentouili M.Y.** *Inventaire et Qualité des Eaux des Sources du Parc National d'El Kala (N.Est algérien).* Mémoire de Magister : *Hydrogéologie* . Université Badji Mokhtar Annaba. 2007. P134

- (8). **Boumaraf. W.,** Cartographie et impact de la qualité des eaux du lac obéira sur la relation sol-végétation (parc national d'el kala), thèse de doctorat, Université Badji Moukhtar Annaba). 2010. p82.

(9). **Brahmia. S.** Ecologie parasitaire des Cyprinidés du lac Oubeira (Nord-Est Algérien), Thèse de Doctorat : Ecologie animale, 2017, p159.

(10). **CASAS, Stelio.** Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. Thèse de doctorat : Océanologie biologique, Environnement marin. 2005,314p

(11). **Chang J.S et al., (1997).** Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21, *Water Research*, vol. 31, no. 7, 1651-1658

(12). **Dhaou-El-Djabine K.** « Evaluation et comportement des métaux lourds (Cd – Cr – Cu – Ni – Pb – Zn et Mn) dans les sols a vocation agricole et a végétation naturelle soumis à une pollution atmosphérique ». Thèse de Magister de l'université de Mentouri de Constantine – Algérie, 2005, p210.

(13). **Doku. T. E., Belford. E. J. D., (2015).** The potential of *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger* in bioaccumulation of heavy metals from the Chemu Lagoon, Ghana, *Journal of Applied Biosciences*, 94, p8907-8914.

(14). **Elhoussein ould sidi mouhamed, M.** Evolution spatiotemporelle des lacs de la région d'elkala (Nord-Est algérien). Mémoire de master. Université kasdi merbah, ouargla, Algeria, 2016. p60.

(15). **Engel, D.'W., Brouwer, M. & Mercaldo-Allen, R. (2001)** - Effects of molting and environmental factors on trace metal body-burdens and hemocyanin concentrations in the American lobster, *H omarusa mericanus*.- *Mar. Environ. Res.*s 2:2s7-269.

(16). **Guanzon, N . G., Nakahara, H., & Yoshida, Y. (1994)-** Inhibitory effects of heavy metals on growth and photosynthesis of three freshwater microalgae-. *Fish.S cf.*,6 0.

(17). **Hamitouche. S.** Analyse de quelques paramètres physico-chimiques et de métaux lourds dans les eaux naturelles de surface en tant qu'habitats d'amphibiens en Kabylie. Mémoire de Master. Université A.MIRA-BEJAIA. (2018). P93.

- (18). **INERIS, 2014.** Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : cuivre, composés et alliages, DRC-14-136881-02236A, 91 p.
- (19). **Lamb DT, Ming H, Megharaj M & Naidu R. 2009.** Heavy metal (Cu, Zn, Cd and Pb) partitioning and bioaccessibility in uncontaminated and long-term contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials* 171: 1150-1158.
- (20). **Layeb. N., Saioudi. A., (2013).** contrle microbiologique des eaux du lac oubeira (El-Taref), Mémoire de master, université 08 mai 1945, Guelma, Algéria, p50.
- (21). **Lecellier. A., (2013).** Détection, caractérisation et identification des moisissures par spectroscopie vibrationnelle, these de doctorat, université de reimes, p196.
- (22). **Nasri. H., El Herry. S., and Bouaïcha. N., (2008).** First reported case of turtle deaths during a toxic *Microcystis* spp. bloom in Lake Oubeira, Algeria, *Ecotoxicology and environmental safety*, 71(2), p535-544.
- (23). **Nuhoglu, Y. et al., 2002.** The removal of Cu(II) from aqueous solution by *Ulothrix zonata*. *Bioresource Technology*, vol. 85, no. 3, 331-333.
- (24). **Rodier. J., (1996).** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. Edition DUNOD, Paris, p23-1068.
- (25). **Ropane millier, 2009,** micobiol remidiation of métal. Biomediation principal and application cumpridg university 312. 340
- (26). **Sag Y., AKTAY Y., 2002.** Kinetics studies of Cr(VI) and Cu(II) ions by chitin, chitosan and *Rhizopus arrhizus*, *Biochemical Engineering Journal*, vol. 12, 143-153
- (27). **Sarri. D.,** Développement durable au sein des aires protégées algériennes, cas du Parc National d'El-Kala et des sites d'intérêts biologique et écologique de la région d'El-Taref, thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1 : écologie, (2016), p240.

(28). **Sehili. N.** Evolution des peuplements phytoplanctoniques au niveau du lac oubeira et la lagune el mellah, mémoire de magistère, Université Badji Mokhtar d'Annaba. (2008). p135.

(29). **SELKA. F.** Contribution à l'évaluation de la pollution marine par les métaux lourds chez les algues de la baie de Honaine, Mémoire de Master en chimie, Université Abou Bakr Belkaid– Tlemcen, 2015, p53.

(30). **von Rozycki, T., and Nies, D.H. (2009),** *Cupriavidus metallidurans*: evolution of a metalresistant bacterium. *Antonie Van Leeuwenhoek* 96: 115-139.

[1]. <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/14548/P0712008.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Consulter le 02/04/2019).

[2]. <http://www.ecofog.gf/IMG/pdf/champignons-2.pdf> (Consulter le 12/04/2019).

[3]. <http://www.futura-sciences.com/s...ciences/dossiers/chimie-fer-tombe-masque-565/page/2/> (Consulter le 30/04/2019).

[4]. <http://mediterranee.revues.org/docannexe/image/6182/img-1.png> (Consulter le 21/05/2019).

[5]. **ATSDR**: Agence américaine des substances toxiques et du registre des maladies (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html> consulter le 20/06/2019)

[6]. http://www.uarga.org/developp-durable/Pollution_eau_metaux.php?around=no (Consulter le 15/05/2017).

ANNEXE

1 Matériel et méthodes

1-1 Matériels utilisés

- Boîtes de pétrie ;
- Flacons en verre ;
- Bec Bunsen ;
- Anse de platine, écouvillons, pipettes Pasteur ;
- Lames et lamelles, lames bistouri ;
- Bécher, entonnoir ;
- Agitateur magnétique ;
- Microscope optique ;
- Balance de précision ;
- Etuve, bain marie ;
- Bleu de méthylène, huile de cèdre ;
- Micropipettes ;
- Des embouts ;
- La hotte ;
- Autoclave ;
- Eau physiologique ;
- Métaux lourds (cuivre)
- Ruban adhésif ;

1-2 Mode opératoire

➤ Revivification des souches

-On a utilisé pour cette étape 5 milieux de culture différents :

- Czapek simple
- Czapek concentré
- sabouraud simple
- sabouraud chloramphénicol
- TGEA

2 Composition des milieux de culture utilisée

2-1 Le milieu Czapek simple

NaNO ₃	2g
K ₂ HPO ₄	1g
KCl	0.5g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.5g
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0.01g
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	0.005g
CuSO ₄ , 7H ₂ O	0.01g
Saccharose	30g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

2-2 Le milieu Czapek concentré

NaNO ₃	30g
K ₂ HPO ₄	20g
KCl	10g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	10g
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0,2g
Saccharose	30g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

2-3 Le milieu Sabouraud simple

Glucose	20g
Peptone	10g
Agar	15g

2-4 Le milieu Sabouraud chloramphénicol

Glucose	20g
Peptone	10g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

Le milieu TGEA

Peptone de caséine	5g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	1g
Glucose	1g
Agar	18g
Le pH doit être 7, l'autoclavage à 120°C pendant 20min.	

3 Préparation des milieux de culture

- Les différents constituants des milieux sont pesés à l'aide d'une balances de précision et mis dans un bicher gradué tout en complétant le volume jusqu'à 1000 ml avec de l'eau distillée.
- Ensuite on chauffe le tout pendant 10 min à une température égale 150 tout en exerçant une agitation avec une vitesse de 500 t/min à l'aide d'un agitateur magnétique pour l'homogénéisation.
- Enfin on verse le milieu liquide dans des flacons stériles en verre.

4 Tableaux des moyennes et des écarts types pour chaque souche :

4-1 Le cuivre

Tableau N°1 : souche isolée à partir du milieu Sabouraud chloramphénicol

	Milieu d'isolement				
	Sab S	Sab Chl	Cz S	Cz S	TGEA
	Moyenne (cm) ±Ecart type				
1	4,933333333 ±0,094280904	5,166666667 ±0,124721913	4,033333333 ±0,368178701	5,666666667 ±0,286744176	1,8 ±0
50	5,033333333 ±0,23570226	3,266666667 ±0,04714045	1,833333333 ±0,23570226	6,533333333 ±0,04714045	1,6 ±0,000
100	3,4 ±0,24494897	3,533333333 ±0,24944383	1,633333333 ±0,18856181	7,466666667 ±0,04714045	2,1 ±0,000
200	1,933333333 ±0,047140452	6,733333333 ±0,524933858	1,7 ±0,141421356	7,3 ±0,141421356	2 ±0,000
300	2,733333333 ±0,24944383	1,166666667 ±0,0942809	3,5 ±0,40824829	7,233333333 ±0,0942809	1,5 ±0,000
400	2,066666667 ±0,047140452	1,033333333 ±0,094280904	2,133333333 0,492160769	7,933333333 ±0,094280904	2,6 ±0,081649658
500	2,633333333 ±0,205480467	0,933333333 ±0,169967317	2,1 ±0,282842712	6,533333333 ±0,23570226	3,066666667 0,449691252

±

Tableau N°2 : souche isolée à partir du milieu Czapek simple

	Milieu d'isolement				
	Sab S	Sab Chl	Cz S	Cz C	TGEA
	Moyenne (cm) ±Ecart type				
1	8 ±0,000	4,5 ±0000	5,7 ±0,163299316	7,633333333 ±0,094280904	3,866666667 ±0,188561808
50	5,7 ±0,14142136	5,7 ±0,000	6,233333333 ±0,0942809	6,066666667 ±0,04714045	3,6 ±0,42426407
100	8 ±0000	7,033333333 ±0,0942809	5,466666667 ±0,04714045	7,066666667 ±0,04714045	3,666666667 ±0,18856181
200	5,333333333 ±0,094280904	7 ±0,000	5,7 ±0,64807407	5,333333333 ±0,23570226	2,7 ±0,000
300	4,8 ±0000	3,5 ±0,000	6,5 ±0000	3,433333333 ±0,0942809	2,9 ±0,000
400	6,2 ±0,141421356	7,2 ±0,000	4,8 ±0,282842712	7,2 ±0,282842712	1,8 ±0000
500	3,133333333 ±3,133333333	6,3 ±0,000	3,5 ±0000	7,866666667 ±0,047140452	4,7 ±0,000

Tableau N°3 : souche isolée à partir du milieu TGEA

Milieu d'isolement					
	Sab S	Sab Chl	Cz S	Cz S	TGEA
Moyenne (cm) ±Ecart type					
1	1,033333333 ±0,124721913	2 ±0,081649658	2,1 ±0,000	4,266666667 ±0,047140452	0,9 ±0,000
50	1,633333333 ±0,12472191	2,5 ±0,16329932	1,6 ±0,000	3,8 ±0,21602469	1,1 ±0,000
100	1,66666667 ±0,20548047	2,1 ±0,08164966	3,8 ±0,08164966	4,03333333 ±0,12472191	0,9 ±0,000
200	1,4 ±0,081649658	2,066666667 ±0,047140452	1,5 ±0,000	5,766666667 ±0,65489609	1,266666667 ±0,047140452
300	2,3 ±0,16329932	2,133333333 ±0,12472191	2,3 ±0,000	3,5 ±0,08164966	1,1 ±0,000
400	2,133333333 ±0,124721913	2,033333333 ±0,124721913	1,5 ±0,000	5,166666667 ±0,169967317	1,1 ±0,000
500	3,433333333 ±1,065624491	5,166666667 ±0,249443826	3,4 ±0,000	5,3 ±0,000	3,1 ±0,081649658

Tableau N°4 : souche isolée à partir du milieu Sabouraud chloramphénicol

Milieu d'isolement					
	Sab S	Sab Chl	Cz S	Cz C	TGEA
Moyenne (cm) ±Ecart type					
1	1,733333333 ±0,0942809	0,7 ±0,000	4,5 ±0,707106781	7,933333333 ±0,249443826	1,8 ±0,000
50	1,76666667 ±0,04714045	1,033333333 ±0,04714045	4,2 ±0	6,26666667 ±0,4027682	7,733333333 ±0,37712362
100	1,9 ±0,08164966	1,033333333 ±0,04714045	2,3 ±0,14142136	6,46666667 ±0,20548047	2,36666667 ±0,28674418
200	1,66666667 ±0,04714045	2 ±0,163299316	3,333333333 ±0,23570226	7,133333333 ±0,262466929	3,033333333 ±0,047140452
300	1,733333333 ±0,04714045	1,8 ±0,000	7,6 ±0,56568542	5,833333333 ±0,30912062	2,4 ±0,14142136
400	2,033333333 ±0,04714045	2,4 ±0,141421356	4,766666667 ±0,329983165	6,5 ±0,081649658	2,966666667 ±0,368178701
500	1,9 ±0,16329932	3,1 ±0,141421356	5,366666667 ±0,329983165	7,433333333 ±0,590668172	3,133333333 ±0,188561808

بحيرة أبيرة هي مجمع للمياه العذبة و هي جزء من الأراضي الرطبة والمتواجدة في شرق الجزائر لها أهمية حيوية وحيوكيميائية التي تتميز بوجود العديد من الأنواع النادرة مثل les hélrophytes,les sidentaires,flamant rose وللأسف تتأثر هذه المياه بتلوث مزدوج تلوث عضوي والأخر تأكسدي

وكجزء من المعالجة البيولوجية باستخدام المكثفات الحيوية ، فان هذه الدراسة مبنية على القيام بتحليل ميكروبيولوجية والتي تتكون من مرحلتين ، المرحلة الأولى تسمح لنا بتحديد مدى قابلية السلالات الفطرية لإعادة الإحياء في أوساط حيوية مختلفة،أما بالنسبة للمرحلة الثانية فتمكنا من معرفة مدى تحسس هذه السلالات من المعادن الثقيلة والتمثلة في النحاس

بينت النتائج أن هذه السلالات قادرة على احتواء الشوارد المعدنية الموجبة في مختلف التراكيز .حيث تم تسجيل تكثيف معتبر للنحاس بالنسبة للسلالة المعزولة وذلك في الوسط Sabouraud simple عند التركيزين

$$C1=10\mu g/l ,C3=10^3 \mu g/l$$

في هذه الحالة،أصبحت لدينا سلالات فطرية قادرة على تنقية هذه البحيرة في تراكيز مختلفة.

كلمات مفتاحية:المعالجة البيولوجية،سلالة فطرية،إعادة إحياء،تحسس

Résumé

Lac Oubeira est une eau douce endoréique qui fait partie du complexe des zones humides de l'Est algérien, qui présente une importance bio-géochimique caractérisé par la présence des plusieurs espèces rares tel que les hélophytes, les sédentaires, flamant rose. Malheureusement ces eaux sont touchés par une double pollution une organique et autre inorganique.

Dans le cadre d'une épuration biologique en utilisant des biosorbants, notre étude a été basée sur une analyse microbiologique subdivisé en deux étapes, une nous a permette de distingué la richesse potentielle des souches fongiques âpres leur revifiction sur plusieurs milieux d'isolement et autre une tolérance vis-à-vis des métaux cas de cuivre.

Ces souches sont capables de piégée les cations métalliques sur différentes concentrations. Une forte accumulation sur milieu Sabouraud simple a été enregistré par l'isolat du milieu Czapek simple sur une concentration de $C1 = 10 \mu\text{g/l}$ et $C3 = 10^3 \mu\text{g/l}$.

Dans ce cas, nos souches fongiques sont devenues des espèces épuratrices pour ce lac dans différents concentration.

Mots clés : épuration biologique, souche fongique, revifiction, tolérance.

Abstract

Lake Oubeira is an endorheal fresh water it's a part of the Algerian wetlands complex, which is represent a biogeochemical importance, characterized by the presence of several rare species such as helophytes, sedentary, and pink flamingos. Unfortunately, these waters are affected by a double pollution an organic and other inorganic.

In the context of a biological purification using biosorbents, our study was based on a microbiological analysis subdivided into two stages. One allowed us to distinguish the potential richness of the fungal strains after their revision in several isolation media, and other a tolerance Screws for life one metal (the copper).

These strains are of trapping metal cations on different concentrations. A strong accumulation on Sabouraud simple medium was recorded towards the copper by the isolate of the medium Simple Czapek on a concentration of $C1 = 10 \mu\text{g/l}$ and $C3 = 10^3 \mu\text{g/L}$

In this case, our fungal strains have become purifying species for this lake in different concentrations.

Key words : biological purification, fungal strain, revision, tolerance.